

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Tereza Schořálková

Hormonální kontrola samčího sexuálního chování u plazů
Hormonal control of male sexual behaviour in reptiles

Bakalářská práce

Školitel: doc. Mgr. Lukáš Kratochvíl, PhD.

Praha, 2011

Poděkování

Na tomto místě bych chtěla hlavně poděkovat svému školiteli doc. Mgr. Lukáši Kratochvílovi Ph.D. za jeho trpělivost a dobré rady při psaní této bakalářské práce a samozřejmě také své rodině, která mě po celou dobu studia podporovala.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 17.8.2011

Podpis

ABSTRAKT

Bezpochyby nejdůležitější hormon, který ovlivňuje typické samčí sexuální chování je testosteron, ovšem i další steroidní hormony jako je dihydrotestosteron, estrogeny nebo progestiny se mohou uplatňovat v této regulaci. Podle teorie organizace a aktivace testosteron působící během ranného ontogenetického vývinu má organizační účinek na chování v dospělosti a toto chování je pak spouštěno vlivem aktuálních hladin hormonů. Navíc existuje ještě hypotéza dočasné organizace, která by mohla změnit náhled na dosavadní výsledky. Základní dělení hojně používané u plazů je dělení podle průběhu steroidogeneze a gametogeneze do skupin s asociovanou nebo disociovanou reprodukční strategií, ale toto rozdělení je jen uměle vytvořené. Tato literární rešerše shrnuje dosavadní poznatky o hormonálním ovlivnění samčího sexuálního chování u plazů a kriticky rozebírá nejčastěji používané metodiky.

Klíčová slova: hypotéza organizace a aktivace, testosteron, *Eublepharis macularius*, *Thamnophis sirtalis parietalis*, sexuální chování

ABSTRACT

The most important hormone affecting typical male sexual behavior in reptiles is testosterone, but also other steroid hormones such as dihydrotestosterone, estrogens or progestins may be involved in this regulation. According to the organizational-activational hypothesis testosterone acting during early ontogenic stage has an organizational effect on adult behavior and this behavior is triggered by influence of recent levels of hormones. Moreover, it was formulated the hypothesis on temporary organization of male sexual behavior that could change existing interpretations. Reptile reproductive strategies use to be classified according to gametogenesis and steroidogenesis as associated or dissociated reproductive strategies however, this division is rather artificial. This review summarizes existing knowledge of the hormonal influence of sexual behavior in reptiles, and comments the most common methods.

Key words: organizational and activational theory, testosterone, *Eublepharis macularius*, *Thamnophis sirtalis parietalis*, sexual behavior

Obsah

Úvod.....	6
1. Samčí sexuální chování.....	6
1.1 Pohlavní hormony.....	6
1.2 Hormonální manipulace.....	7
1.3 Důležité oblasti CNS pro reprodukční chování.....	8
2. Hypotéza organizační a aktivační funkce hormonů.....	9
2.1 Organizační funkce hormonů.....	9
2.2 Aktivační funkce hormonů.....	9
2.3 Koncept dočasné organizace hormony.....	10
3. Reprodukční strategie.....	10
3.1 Načasování spermatogeneze.....	11
3.2 „Associated breeders“.....	12
3.2.1 Skupina, u které byla pozorována časová shoda mezi zvýšenou produkcí androgenů a rozmnožováním.....	13
3.2.2 Skupina, u které byly experimentálně provedeny manipulační studie.....	15
3.3 „Dissociated breeders“.....	18
4. Přehled experimentálních prací u nejprozkoumanějších druhů.....	18
4.1 <i>Anolis carolinensis</i>	18
4.1.1 Role testosteronu.....	18
4.1.2 Role estrogenů.....	19
4.1.3 Role dihydrotestosteronu.....	19
4.2 <i>Eublepharis macularius</i>	20
4.2.1 Inkubační doba, pohlaví a chování.....	20
4.2.2 Hormonální manipulace a sexuální chování.....	21
4.2.3 Hladiny pohlavních hormonů a kopulační orgány.....	21
4.2.4 Vliv předchozích sociálních zkušeností.....	22
4.2.5 Mozkové oblasti.....	23
4.3 Rod „ <i>Cnemidophorus</i> “.....	24
4.3.1 <i>Aspidoscelis inornatus</i>	24
4.3.2 <i>Aspidoscelis uniparens</i>	26
4.3.3 Srovnání mezi <i>A. inornatus</i> a <i>A. uniparens</i>	27
4.3.4 Spouští progesteron sexuální chování i u jiných druhů?.....	27
4.4 <i>Thamnophis sirtalis</i>	28
Závěr.....	31
Seznam použité literatury.....	32

ÚVOD

Plazi jsou díky variabilitě v reprodukčních strategiích, různému způsobu určení pohlaví a častým hybridizačním událostem důležitými modelovými organismy pro zkoumání, jak hormony ovlivňují reprodukční chování. Porozumění základním mechanismům, které řídí sexuální chování a ovlivňují rozdíly mezi pohlavími u plazů, je zásadní pro pochopení průběhu evoluce sdílených i rozdílných znaků u všech obratlovců.

Obecně se tvrdí, že samčí sexuální chování je ovlivňováno hlavně gonadálními androgeny, zatímco samičí reprodukční cykly regulují estrogény a progestiny. Přesto u mnoha druhů obratlovců bylo dokázáno, že aromatizací testosteronu vzniklý estradiol je nezbytný pro expresi celého repertoáru samčího reprodukčního chování (takzvaná aromatizační hypotéza) (Callard a kol. 1978a, 1978b). V poslední době se objevují práce, podle kterých je nečekaně i progesteron důležitý pro samčí rozmnožování, ačkoliv jeho účinky byly obvykle považovány za antiandrogenní (Andersen a Tufík 2006).

Mým úkolem v této práci je shrnout a porovnat dosavadní poznatky, které se týkají hormonální kontroly samčího sexuálního chování u plazů, a také se seznámit s nejčastěji zkoumanými druhy a metodikami.

1. Samčí sexuální chování

Každý druh má své určité vzorce chování, které jsou neměnné, pro každé z obou pohlaví specifické a většina druhů je demonstruje jen v určitém ročním období. Samčí sexuální chování je důležitou součástí reprodukce, nesestává jen ze samotné kopulace (konsumatorní fáze), ale důležitou roli hrají také dvoření a prekopulační chování (apetitivní chování), které jsou u plazů většinou velmi nápadné a proto také vhodné k studiu. Samčí dvoření stimuluje samčí receptivitu, u některých druhů ale v evoluci vymizelo a zůstalo jen kopulační chování (Golinski a kol. 2011b). Tato událost je z evolučního hlediska zajímavá, protože není úplně jasné, jak mohla tato důležitá součást rozmnožování vymizet.

1.1 Pohlavní hormony

Pohlavní hormony patří mezi skupinu steroidních hormonů, které jsou syntetizovány z cholesterolu v procesu, kterému se říká steroidogeneze. Mezi skupiny steroidních hormonů patří například androgeny, estrogény, progestiny a kortikosteroidy (Norris 2007). Steroidní pohlavní hormony účinkují hlavně tak, se vážou na povětšinou specifické receptory na cílových buňkách a působí zde jako transkripční faktory a ovlivňují tak genovou expresi (Hiipakka a Liao 1998), takové cílové buňky můžeme najít především v centrální nervové soustavě nebo v tkáních, které hrají roli

v reprodukčním chování (kopulační orgány, hrdelní lalok používaný samci při dvoření) (Rhen a Crews 2001; Holmes a Wade 2005).

Testosteron (T^1) je považován za hlavní samčí pohlavní hormon ze skupiny androgenů, ovlivňuje chování, morfologii a fyziologii, má silné maskulinizační účinky. Jedná se o steroidní hormon, který je produkován u většiny obratlovců zejména intersticiálními buňkami (Leydigovými buňkami) ve varlatech, ale i v menší míře i nadledvinkami a dalšími tkáněmi (Norris 2007). I u samic je testosteron v menším množství syntetizován a může pozitivně ovlivňovat jejich receptivitu (Noble a Greenberg 1941). Vzniká metabolickou drahou z cholesterolu, přes pregnenolon. Není ale konečným produktem, může být pomocí enzymu aromatázy metabolizován na estradiol (E_2^2) nebo pomocí enzymu 5α -reduktázy přeměněn na 5α -dihydrotestosteron (DHT^3), který na rozdíl od T není aromatizovatelný a silněji se váže na androgenové receptory (Norris a Lopez 2011). Enzymy aromatáza i reduktáza byly v hojném množství objeveny v mozku a dalších tkáních obratlovců, u některých druhů bylo prokázáno, že metabolismus T je velmi důležitý pro správné reprodukční chování. Byly předloženy i nejrůznější hypotézy (například aromatizační hypotéza) (Callard a kol. 1978a), ale objevení jednotného mechanismu regulace rozmnožovacího chování napříč všemi obratlovci se zatím nepodařilo. Ale platí, že u většiny plazů je pravděpodobně hlavním cirkulujícím androgenem v krvi T a jeho účinky na sexuální chování jsou silnější než u jeho metabolitů (Crews a kol. 1978).

Ovšem samčí chování neovlivňují jen steroidní hormony jako jsou androgeny, estrogeny, progestiny, ale pravděpodobně i další látky jako je neurohormon dopamin nebo antidiuretický hormon arginin vasotocin (review Woolley a kol. 2004), ovšem u plazů byla tato myšlenka zkoumána jen u dvou druhů a v malém rozsahu (Woolley a kol. 2001; Sakata a kol., nepublikovaná data citovaná v Woolley a kol. 2004). Bylo by třeba provést rozsáhlejší studie na toto téma, aby se potvrdila úloha těchto látek v regulaci sexuálního chování.

1.2 Hormonální manipulace

Důležitou metodou, jak odhalit vliv gonadálních hormonů na chování jedinců je experimentální manipulace s hladinami hormonů. Takové manipulace se nejčastěji provádějí pomocí odstranění gonád, prostřednictvím vložených implantátů, které obsahují a uvolňují příslušné hormony (implantáty podkožní nebo do coelomové dutiny) nebo injekcemi s roztokem rozpuštěných hormonů (například práce Mason a Adkins 1976; Rhen a Crews 1999b; Golinski a kol. 2011b). V počátečních manipulačních experimentech s hormonálními hladinami se používaly metody vložení krystalů syntetického hormonu pod kůži, ovšem tato metoda nedovolila postupné uvolňování hormonů do oběhu, jako je tomu u dnešních implantátů (Noble a Greenberg 1941). V rámci centrální nervové soustavy a

¹ Dále v textu bude používána pro testosteron zkratka T

² Dále v textu bude používána pro estradiol zkratka E_2

³ Dále v textu bude používána pro 5α -dihydrotestosteron zkratka DHT

oblastí senzitivních na hormony se využívá hormonálních implantací přímo do určitého místa nebo vytvoření lézí (například práce autorů Crews a Morgentaler 1979; Friedman a Crews 1985a, 1985b). Další metodou ne tolik rozšířenou je použití látek, které blokují androgenové receptory (flutamid) či inhibují syntézu androgenů (cyproterone acetát) (Haider a Rai 1986).

Nedílnou součástí hormonální manipulace je pozorování změn v chování a ideální je na konci nebo během experimentu stanovit hladiny cirkulujících hormonů v krvi. Výsledky je ale nutné brát s opatrností. V laboratoři často chybí důležité rysy přirozeného prostředí, navíc je tu riziko zvýšeného stresu díky manipulaci, nepřirozenému prostředí, blízkosti dalších jedinců nebo naopak efekt izolace a nedostatek sociálních zkušeností.

1.3 Důležité oblasti CNS pro reprodukční chování

V mozku se nacházejí oblasti, které obsahují větší množství neuronů, které akumulují pohlavní hormony. U samců jsou nejčastěji zmiňovány v souvislosti s regulací reprodukčního chování oblasti *area preoptica* (POA⁴), respektive kontinuum *anterior hypothalamus-area preoptica* (AH-POA). U některých druhů jsou hranice mezi AH a POA nerozlišitelné, pak se tato oblast označuje jako AH-POA kontinuum, ale třeba u *Eublepharis macularius* jsou obě oblasti považovány za dobře ohraničené (Coomber a kol 1997). Dále je pozornost věnována amygdaloidní oblasti homologické se savčí amygdalou (nazývajících se *nucleus sphaericus*, NS nebo ventromedialní nukleus amygdaly, AMY) (Greenberg a kol 1984). V těchto oblastech byly objeveny androgenové receptory, což dokazuje, že androgeny na tyto struktury působí (Rhen a Crews 2001). Významný vliv AH-POA na regulaci reprodukčního chování samců byl dokázán například u *Anolis carolinensis* (Morgantaler a Crews 1978; Wheeler a Crews 1978), *Thamnophis sirtalis parietalis* (Friedman a Crews 1985a; Krohmer a Crews 1987), *Aspidoscelis inornatus* (Kingston a Crews 1994), *E. macularius* (Edwards a kol. 2004) či vliv na pseudosexuální chování u samic *Aspidoscelis uniparens* (Mayo a Crews 1987; Kingston a Crews 1994). Tento účinek byl objeven pomocí experimentů, při kterých léze v této zóně naruší sexuální chování u sexuálně aktivních samců a implantáty obnoví sexuální chování u kastrátů. Dále se zkoumá oblast VMH (*ventromedial hypothalamus*⁵), která je důležitá spíše pro samičí receptivitu, jak bylo ukázáno například u *Aspidoscelis uniparens* (Kendrick a kol. 1995). Tyto mozkové oblasti se často liší velikostí mezi pohlavími a také mezi reprodukčním obdobím a zbytkem roku (Crews a kol. 1993).

Pohlavní hormony v mozku obratlovců působí na růst, velikost, diferenciaci, migraci, tvar i počet specifických buněk, mění biochemické procesy a ovlivňují synapse v rámci různých mozkových oblastí (Arnold a Breedlove 1985; Cooke a kol. 1998), tímto způsobem mohou ovlivňovat morfologii i chování v průběhu vývoje i v rámci ročního cyklu. Androgeny mohou tímto způsobem takzvaně maskulinizovat nervovou soustavu a ovlivnit tak následné chování.

⁴ Dále v textu jako POA, respektive AH-POA

⁵ Dále v textu jako VMH

2. Hypotéza organizační a aktivační funkce hormonů

2.1 Organizační funkce hormonů

Hypotéza organizační funkce hormonů v raném vývoji jedince byla poprvé vyslovena v 50. letech (Phoenix a kol. 1959) díky výsledkům experimentální práce na morčatech, při které se gravidním samicím podávaly injekce testosteron propionátu (TP⁶), které trvale ovlivnily (maskulinizovaly) morfologii a chování narozených samiček. Injekce TP po narození již takový účinek neměly. To přineslo myšlenku, že v raném ontogenickém vývinu musí existovat senzitivní perioda, během které lze ovlivnit morfologii a budoucí chování, zřejmě prostřednictvím strukturních změn vyvolaných působením hormonů. Hypotéza je dnes formulovaná tak, že androgeny a estrogeny mohou měnit základní znaky jedinců díky svému organizačnímu efektu. Vystavení androgenům v ranném ontogenickém vývinu během senzitivního období způsobí maskulinizaci a defeminizaci nervových drah a zřejmě naopak nedostatek androgenů způsobí vývoj samičích znaků. Takový organizační efekt je trvalý a nemůže být později zvrácen dalším vystavením pohlavním hormonům. Také dochází k naprogramování behaviorální reakce na další expozici hormonům v dospělosti.

2.2 Aktivační funkce hormonů

S konceptem organizačního efektu hormonů je spojena i hypotéza aktivační funkce hormonů, kdy hormony v dospělosti přímo působí na specifické receptory v příslušných tkáních a spouští expresi typicky samčího či samičího chování či fyziologie. Takový efekt je dočasný, uplatňující se pouze za přítomnosti zvýšených hladin příslušných hormonů a pokud nebyly odpovídající dráhy v minulosti organizovány, tak chování může být aktivováno většinou nezávisle na pohlaví, protože dráhy jsou i nadále plastické. Pro aktivační efekt steroidních hormonů je typické, že po odstranění zdroje hormonů chování vyhasíná. Za příklad tohoto dočasného efektu by mohlo být považováno podání T implantátu dospělým samicím gekončíka *Eublepharis macularius*, který způsobí, že samice předvádějí typicky samčí dvoření vůči dalším samicím. Po odstranění takového implantátu dojde během několika dnů k vymizení tohoto chování a samice jsou dále schopné vlastní reprodukce a jejich potomci jsou životaschopní (Rhen a kol. 1999). V tomto případě můžeme předpokládat, že dvoření u obou pohlaví gekončíka je aktivováno testosteronem.

Chování je zpravidla považováno za aktivované gonadálními steroidními hormony v případě, že kastrace chování zruší a podání hormonů kastrovaným jedincům chování obnoví.

⁶ Syntetický testosteron, v dalším textu bude používána zkratka TP

2.3 Koncept dočasné organizace hormonů

Na základě výsledků manipulačních experimentů u gekončíka *Coleonyx elegans* (Golinski a kol. 2011b) navrhli autoři další hypotézu, jak by mohly pohlavní hormony kontrolovat sexuální chování. V této studii u *C. elegans* nedošlo ani po 10 týdnech od kastrace k poklesu sexuálního chování, přitom hladiny T byly velmi nízké, ale u samic implantáty T samčí sexuální chování navodily. Proto se autoři domnívají, že androgeny by mohly mít organizační účinek na mozkové obvody spojené s rozmnožováním i v dospělosti. Takový efekt by mohl být přetrvávající po určitou dobu bez přítomnosti androgenů, tedy dlouhodobější než je výše zmíněný aktivační efekt hormonů. Tato prodloužená doba by se mohla teoreticky lišit mezi druhy, podle toho jaké prostředí obývají nebo jakou mají sociální strukturu. Extrémním případem by pak mohla být užovka *Thamnophis sirtalis parietalis*, u které je samčí reprodukční chování nezávislé na aktuálních hodnotách androgenů (Camazine a kol. 1980; Crews a kol. 1984; Crews 1991). Pokud by se potvrdilo, že mechanismus kontrolující sexuální chování u těchto dvou druhů je opravdu stejný, pak by tu byla možnost, že tento mechanismus mohl být přítomný i u společného předka, teoreticky tedy i u společného předka většiny plazů. Pak tedy proč při dalších experimentech, kdy byli samci vykastrováni, nebyl pozorován stejný prodloužený efekt hormonů? Odpověď by mohla být v experimentální designu a v metodice těchto experimentálních prací. Navíc působení obou mechanismů je na první pohled stejné, hormony spouští sexuální chování, rozdíl je patrný až když jsou hladiny hormonů nízké, proto ne všechny práce mohly zachytit právě tento rozdíl. Vhodné by bylo provést několik experimentů zaměřených na rozpoznání této odlišnosti, zejména sledování, za jak dlouhou dobu po kastraci nebo po vyjmutí implantátu dojde k poklesu sexuálního chování.

3. Reprodukční strategie

Vztahy mezi gonadální aktivitou a reprodukčním chováním můžeme rozdělit do tří kategorií (Crews 1984; Woolley a kol. 2004), přičemž důraz je kladen na steroidogenezi a gametogenezi:

1) *asociovaná reprodukční strategie*: rozmnožování je doprovázeno sekrecí gonadálních hormonů a spermatogenezí (sem pravděpodobně můžeme zařadit většinu obratlovců), označují se pak jako takzvaní „*associated breeders*“.

2) *disociovaná reprodukční strategie*: rozmnožování není spojené se sekrecí gonadálních hormonů ani se spermatogenezí. Druhů s touto strategií je relativně málo, označují se pak jako takzvaní „*dissociated breeders*“.

3) *konstantní neboli oportunistická reprodukční strategie*: po většinu roku plně vyvinuté gonády uchovávají zralé gamety až do vhodného okamžiku pro rozmnožování. Typické pro druhy žijící v extrémních podmínkách, které jsou velmi proměnlivé. Druhy s tímto druhem reprodukce nebyl dosud příliš prozkoumány.

Toto schéma představuje užitečné rozdělení, ovšem ne všechny druhy se dají přesně zařadit mezi jednu z kategorií. Skutečnost je daleko komplikovanější. Některé druhy mají rozmnožování spojené se zvýšenými hladinami steroidních hormonů, ale už ne se spermatogenezí a varlata jsou během tohoto období v regresi, spermatogeneze pak u nich nastává po skončení reprodukční sezóny. Tomuto typu se říká „*postnuptial*“ spermatogeneze (viz dále). Tento typ načasování spermatogeneze můžeme najít u *Elaphe climacophora* (Hondo a kol. 1994) nebo *Cordylus giganteus* (Van Wyk 1995) a dalších. A podobně také *Agkistrodon contortrix* (Schuett a kol. 1997), *Crotalus oreganus* (Lind a kol. 2010) a *Crotalus atrox* (Taylor a kol. 2004) mají zvýšené hladiny pohlavních hormonů během obou období rozmnožování, ale jen jedno je spojeno i se spermatogenezí. Hatérie *Sphenodon punctatus* (Bradshaw a kol. 1988) má páření spojené se zvýšenými hladinami androgenů, ale spermatogeneze probíhá během celého roku i za nízkých hladin androgenů. Poddruh užovky *Thamnophis sirtalis concinnus*, který se pravděpodobně jako *Thamnophis sirtalis parietalis* může řadit mezi tzv. „*dissociated breeders*“ (jarní rozmnožování není podle všeho vázané na zvýšené hladiny androgenů a spermatogeneze probíhá až po reprodukční sezóně), byl několikrát pozorován, jak se páří i na podzim (Moore a kol. 2000b), kdy je hladina T zvýšená, tedy až po letní spermatogenezi.

3.1 Načasování spermatogeneze

Z jiného pohledu na věc můžeme rozdělit živočichy i podle ročního cyklu aktivity varlat. U mnoha sezónně se rozmnožujících druhů bylo pozorováno dozrávání gamet těsně před nebo během rozmnožování, tento typ můžeme nazvat „*prenuptial*“ spermatogeneze. Druhým typem je spermatogeneze „*postnuptial*“, která je od rozmnožování časově oddělena a je často dokončena až v období následujícím po páření.

Základní zjednodušené rozdělení podle Saint Girons (1982), důraz kladen na gametogenezi:

Letní („*postnuptial*“) spermatogeneze je typická pro druhy mírného a subtropického pásma, často tam, kde je nutné přes nepříznivé období hibernovat. Obvykle dochází k páření na jaře a často i na podzim, zatímco spermatogeneze je typická pro letní měsíce. Spermie jsou pak skladovány ve *vas deferens* samců přes zimu, nebo pokud probíhá podzimní páření, tak mohou být spermie skladovány v samičích vejcovodech. Tento typ spermatogeneze byl častěji dokumentován u hadů a želv, méně často u ještěřů.

Druhy s jarní („*prenuptial*“) spermatogenezí můžeme najít na nejružnějších místech, kromě nejchladnějších oblastí. Spermatogeneze je dokončena do rozmnožovací sezóny, většinou ji krátce předchází.

Rozdělení do základních skupin je určitě užitečné pro kategorizaci živočichů, ale druhy žijí v odlišných sociálních a environmentálních podmínkách, proto je často těžké je zařadit do některé z uměle vytvořených kategorií. Díky snaze druh někde zařadit pak mohou být snadno přehlédnuté

některé závažné skutečnosti. Také postupy a okolnosti výzkumu se liší, odlišné výsledky může dát výzkum ve volné přírodě nebo v laboratoři. Proto je nebezpečné slepě zevšeobecňovat podle jednotlivých výsledků. Je také vhodné uvědomovat si evoluční a fylogenetické souvislosti. Hormonální hladiny jedinců ovšem mohou být ovlivněny stresem z odchyty a zacházením v zajetí. U některých druhů klesají hladiny pohlavních hormonů už po několika minutách po odchyty, stresové hormony jsou naopak zvýšené (u *Thamnophis sirtalis parietalis* v práci Moore a kol. 2000a). A opakované odebírání krve může mít u některých druhů dopad na koncentrace pohlavních hormonů (*Agkistrodon contortrix*, Schuett a kol. 1997). Navíc výsledky pocházející od déle držných jedinců v zajetí je také dobré porovnávat s výsledky z volné přírody, často se v zásadních ohledech liší (Mahmoud a Licht 1997). Také technika se vyvíjí a přesnost stanovení koncentrace hormonů v plasmě se stále zvyšuje (výsledky u *Agkistrodon piscivorus* ve studii Johnson a kol. 1982 v porovnání se studií Zaidan a kol. 2003). V laboratoři je narušené přirozené prostředí, které může mít rozsáhlý vliv na chování jedince, například u želv žijících volně byly nalezeny vyšší hladiny T než bylo předtím uváděno u jedinců v zajetí (Ott a kol. 2000). Sexuální chování nemusí být nezbytně závislé pouze na pohlavních hormonech, jak se dlouho věřilo, ale i samotný stav jednotlivců, zkušenosti, sociální postavení, dostupnost potravy a okolní živá i neživá příroda mohou mít významný vliv na sexuální projev jedince (Moore 1987). A tyto skutečnosti jsou v laboratoři většinou úmyslně potlačeny, aby vyniknulo jen samotné hormonální působení. Proto je nutné brát všechny výsledky s opatrností, všítat si i možných zdánlivě méně důležitých okolních vlivů a snažit se o co nejpřirozenější zacházení s každým jedincem.

V literatuře jsou podle mého názoru termíny „*prenuptial*“ a „*postnuptial*“ používány poněkud nejednotně, mnohdy dochází k posunu významu a setření rozdílu mezi asociovaná/disociovaná reprodukční strategie a *prenuptial/postnuptial* gametogeneze. Někteří autoři kladou spíše důraz na to, zda je rozmnožování asociováno s hormony, jiní se snaží o zařazení podle gametogeneze. Je to také ovlivněno tím, že v dřívějších dobách se koncentrace hormonů v krvi příliš neposuzovala, příkladem je práce autorů Noble a Greenberg (1941). S častějším používáním metody RIA (radioimunologická analýza) se začal klást větší důraz na hodnoty cirkulujících hormonů a jak postupuje doba, tak i tyto zjišťovací metody se zpřesňují. Také jednotliví autoři se často liší v hodnocení jednotlivých součástí sexuálního chování. Co jedni autoři považují za součást konzumační fáze, druzí mají ještě za apetitivní fázi. Stejně tak i názvy jednotlivých fází gametogeneze jsou často používány neuceleně, jak upozornil již Saint Girons (1982). Používání nejednotné terminologie a nedůkladné využívání primárních literárních zdrojů může způsobit značné nepřesnosti ve výkladu zjištěných informací.

3.2 „Associated breeders“

Druhy, které jsou často do této skupiny zařazovány, se vyznačují tím, že jejich sexuální chování je spojené se zvýšenými hladinami androgenů a/nebo se spermatogenezí. Většina druhů je do této

skupiny zařazována na základě pozorování reprodukčního chování během ročního cyklu a doprovázené sledováním hladin pohlavních hormonů.

Na základě pozorování reprodukčního cyklu a hormonálních hladin během roku můžeme s opatrností prohlásit, že tyto skutečnosti nastávají sice ve stejnou dobu, ale nemůžeme s jistotou tvrdit, že spolu úzce souvisí, tedy že zvýšené hladiny pohlavních hormonů spouštějí sexuální chování. Abychom měli přesnější představu, je zapotřebí hormonálních manipulací, jako je kastrace a/nebo hormonální implantáty. Pokud je chování zrušeno po kastraci a kastráti obnoví chování po dodání exogenních hormonů, tak máme již větší pravděpodobnost, že chování je ovládané pohlavními hormony (Crews a kol. 1984).

3.2.1 Skupina, u které byla pozorována u samců časová shoda mezi zvýšenou produkcí androgenů a rozmnožováním. Sem se dají zařadit druhy, u kterých zatím nebyla souvislost mezi hladinami hormonů a reprodukčním cyklem ověřena experimentálně, ale byl jen pozorována časová souvislost.

Ještěři:

Varanus albigularis (Phillips a Millar 1998) – během reprodukční sezóny hodnoty T v krvi stoupají 10× až 30× v porovnání s obdobím mimo rozmnožování.

Ctenophorus nuchalis a *Ctenophorus caudicinctus* (Bradshaw a kol. 1991) pocházejí z Austrálie z podobných podmínek, ale liší se reprodukční sezónou, ale u obou byly během rozmnožování zaznamenány zvýšené hladiny androgenů.

Pogona barbata (Amey a Whittier 2000) nejvyšší hodnoty androgenů byly naměřeny na počátku reprodukční sezóny. Po ní klesají a následně se opět mírně zvyšují.

Niveoscincus ocellatus (Jones a kol. 1997) by mohl být s menšími výhradami zařazen do této skupiny. Hladina T má svůj vrchol před podzimním obdobím rozmnožování, během něj mírně klesá. Druhé mírnější zvýšení nastává po zimě. Toto zvýšení by mohlo předcházet jarnímu rozmnožování, ale ještě není úplně jasné, do jaké míry je jarní rozmnožování obvyklé. A podobně u příbuzného druhu *Niveoscincus metallicus* (Swain a Jones 1994) páření pravděpodobně nastává během období, kdy byly naměřeny v plasmě zvýšené koncentrace T, ale hodnoty byly velmi variabilní mezi jedinci. Také na jaře bylo u menší části samců naměřeny vyšší hladiny androgenů a samice jeví známky nedávného páření, proto možná i u tohoto druhu je pravděpodobné druhé období rozmnožování na jaře.

Cordylus giganteus (Van Wyk 1995) má pozorovaná dvě zvýšení hladiny T v krvi, jedno zvýšení odpovídá rozmnožovací sezóně a druhé spermatogenezi. Jedná se o „*postnuptial*“ spermatogenezi. Podzimní páření v době spermatogeneze není potvrzené.

Hadi

Agkistrodon contortrix (Schuett a kol. 1997). Během roku byly u něj naměřeny dva vrcholy v hladinách T. Oba odpovídají jarnímu a podzimnímu období rozmnožování (bimodální rozmnožovací období). Ovšem jarní rozmnožování probíhá v době, kdy jsou varlata v regresi. Spermatogeneze probíhá až během léta. Zatímco na základě podzimního množení by se dal zařadit do skupiny asociované reprodukční strategie, díky jarnímu množení to ale není jednoznačné.

U *Agkistrodon piscivorus* (Graham a kol. 2008) bylo pozorováno jen unimodální rozmnožovací období v pozdním létě a na podzim, kterému předchází jen jeden vrchol cirkulujícího T a to v červenci. Stejný model byl pozorován i u poddruhu *Agkistrodon piscivorus leucostoma* (Zaidan a kol. 2003). Jarní množení u tohoto druhu nebylo nikdy pozorováno, ani hodnoty T nejsou na jaře zvýšené (Johnson a kol. 1982; Zaidan a kol. 2003; Graham a kol. 2008).

Vipera aspis (Saint Girons a kol. 1993) má hlavní reprodukční období na jaře, část jedinců se páří i na podzim. Hladiny androgenů byly u skupiny samců během reprodukčních sezón zvýšené oproti samcům testovaným po reprodukční sezóně. Ovšem rozdíly mezi jednotlivci byly veliké. Samcům, kteří projevovali sexuální chování, byly naměřeny hodnoty cirkulujícího T od 0,27 ng.ml⁻¹ do 53,73 ng.ml⁻¹ a u nerozmnožujících se jedinců od 0,06 ng.ml⁻¹ do 11,50 ng.ml⁻¹. Což napovídá, že T bude pro rozmnožování zřejmě důležitý, ale ne jediný nezbytný podnět.

Podobně i *Crotalus oreganus* (Lind a kol. 2010), má dvě rozmnožovací sezóny, obě spojené s vyššími hladinami androgenů, ovšem jarního rozmnožování se účastní samci s velmi variabilními hodnotami T. *Crotalus atrox* (Taylor a kol. 2004; Schuett a kol. 2005) má také obě reprodukční období doprovázené zvýšenými hladinami T. Překvapivě *Crotalus molossus* žijící sympatricky s *Crotalus atrox* má pouze jedno období rozmnožování, které je doprovázené zvýšenou koncentrací T (Schuett a kol. 2005). Autoři se domnívají, že rozdíl v reprodukčních cyklech těchto dvou příbuzných druhů hadů, kteří žijí sympatricky a působí na ně stejné okolní podmínky, by mohl být dán historickým vývojem v jiných oblastech, než je můžeme v dnešní době najít.

Zvláštním případem jsou poddruhy užovky *Thamnophis sirtalis sirtalis* (Clesson a kol. 2002) a *Thamnophis sirtalis concinnus* (Moore a kol. 2000b), u kterých byla naměřena zvýšená hladina T těsně před rozmnožováním. Ovšem během prvních 14 dnů došlo k poklesu a až po rozmnožovacím období byly naměřeny nejvyšší hodnoty. Jedná se zřejmě o podobný případ, jako u příbuzného poddruhu *T. sirtalis parietalis*, kde byl pozorován stejný typ ročního cyklu hladin hormonů a kastrace samčí sexuální chování na jaře nenaruší (Crews a kol. 1984; Moore a kol. 2000a). *T. sirtalis parietalis* s největší pravděpodobností nemá rozmnožovací sezónu vázanou na T. Je tedy velmi pravděpodobné, že je tomu tak i u příbuzných poddruhů. Pro potvrzení této hypotézy by bylo zapotřebí provést hormonální manipulace.

Krokodýli

Alligator mississippiensis (Lance 1989) má nejvyšší hladinu T v krvi na počátku reprodukční sezóny, ke konci je hladina nízká. Na podzim opět mírně narůstá, ale bez viditelné příčiny.

Želvy

Želvy mají komplikované reprodukční cykly, přehlednost je ještě ztížena tím, že samci často skladují spermie ve *vas deferens*.

Gopherus polyphemus (Ott a kol. 2000). U tohoto druhu nastává spermatogeneze, zvýšená sekrece T a páření ve stejném období (cca červenec – listopad)

Lepichelys kempii (Rostal a kol. 1998) má hladiny T zvýšené několik měsíců před rozmnožováním, vrchol je na začátku rozmnožování (prosinec) a celé rozmnožovací období jsou hladiny zvýšené (samčí sexuální aktivita od prosince až do května, největší kopulační aktivita v březnu). Spermatogeneze probíhá před rozmnožováním (listopad, prosinec).

Chelydra serpentina (Mahmoud a Licht 1997), hladiny T jsou zvýšené od května do září a v tomto období bylo i pozorováno páření. Spermatogeneze probíhá také v tomto období.

Geochelone nigra (Schramm a kol. 1999) – testosteron začíná narůstat měsíc před rozmnožovací sezónou a je zvýšený po zbytek sezóny. Autoři se domnívají že spermatogeneze také probíhá před rozmnožovací sezónou. Podobně u další velké želvy *Geochelone gigantea*.

Zřejmě také *Chelonia mydas* (review Licht 1982), která má nejvyšší hladinu T tři měsíce před rozmnožováním a během něj dosahuje jen polovičního rozsahu, ale stále se dá považovat za zvýšenou.

Hatérie

Sphenodon punctatus (Bradshaw a kol. 1988) - páření probíhá v období se zvýšenými hladinami androgenů, ovšem studovaný vzorek jedinců byl příliš malý.

3.2.2 Skupina, u které byly experimentálně provedeny manipulační studie, za účelem potvrzení aktivační hypotézy, která říká, že sexuální chování je závislé na androgenech.

a) Kastrace reprodukční chování narušily a experimentální dodání androgenů chování opět obnovilo:

Anolis sagrei

→ (Tokarz 1986) – kastrace neovlivnila takzvanou první reakci na samici, ale žádný ze samců neprovedl takzvaný *neck-grip* (obvykle považován za součást kopulačního chování, jedná se o kousnutí do kůže na krku samice) a nekopuloval. Naopak kastrovaní samci, kteří dostali implantáty T nebo DHT se chovali srovnatelně s intaktními samci.

Anolis carolinensis

→ Mason a Adkins (1976) zjistili, že kastrace naruší dvoření (houpání hlavou), oproti tomu injekce T spolehlivě obnoví sexuální chování u kastrátů na úroveň intaktních samců a stejně tak působí T na kastrované samice. V této studii ale nebyly pozorovány kopulace, protože většina samic, která sloužila jako stimul pro sledované jedince, nebyla receptivní. U samic bylo pozorováno jen jedno kompletní sexuální chování i s pokusem o kopulaci. To bylo během úvodní fáze experimentu, kdy samice dostala dvojnásobnou dávku T (srovnatelnou se samci, samci během celého dostávali dvojnásobnou dávku než samice, protože jsou větší).

→ V práci Crews a kol. (1978) kastrace samců výrazně prodloužila dobu, která uplynula do první reakce na stimul (houpání přední části těla s roztaženým hrdelem) a zároveň snížila frekvenci při opakování této typické reakce. Pouze T implantát výrazně pozměnil sledované znaky u kastrátů (zkrátil dobu do prvního provedení houpání hlavou a zvýšil frekvenci tohoto chování) v porovnání s kastrovanými samci s cholesterolovými implantáty. DHT v této studii také nebyl účinný. Ovšem při tomto experimentu nebyli použiti intaktní samci jako kontrola a autoři se nezmiňují, zda došlo k pokusům o páření a ani o tom, zda samice byly receptivní. Navíc těsně před kastrací byli samci ještě testováni na sexuální chování. Toto všechno mohlo ovlivnit výsledky kastrace a následné implantace. Také použití cholesterolu u kastrovaných kontrolních samců by svým způsobem mohlo ovlivnit další chování, protože cholesterol figuruje v metabolismu steroidních hormonů

→ Noble a Greenberg (1941) ve své práci ukázali, že implantovaný TP dokáže vyvolat u kastrovaných i intaktních samic celý repertoár typického samčího chování. Ovšem nezmiňují, jakou dávku TP použili. Navíc tyto dávky vyvolávaly u samic samčí sexuální chování a zároveň i receptivitu. Hladiny pohlavních hormonů nebyly během experimentu nijak ověřovány.

Eublepharis macularius

→ Podle práce autorů Rhen a Crews (1999) kastrace zruší důležitou součást samčího dvoření (vibrace ocasem), implantáty T kastrátům toto chování plně obnoví, navíc v menší míře vyvolají i u samic. Kastrace ale překvapivě příliš nenarušila tzv. *body-grip* (kousnutí do kůže na krku nebo na ocase, obvykle považován za součást páření), ale u samic stejné dávky toto chování nevyvolaly. Testování probíhalo až 4 týdny po kastraci/implantaci. To je poměrně dlouhý čas, možná, že je dvoření více citlivé na hladiny androgenů a proto také dříve po kastraci vymizí než vlastní páření. Pravděpodobně je specifické jen pro samce, zřejmě tedy organizované během vývoje.

Sceloporus jarrovi

→ (Moore 1987) jedná se o terénní studii, kde část jedinců byla vykastrována a další část jen klamně operována. Byli navraceni do svého původního teritoria a byli konfrontováni se samicí. I když sexuální chování u kastrátů bylo ovlivněno, u některých jedinců částečně přetrvalo a 10 % dokonce úspěšně kopulovalo i po třech týdnech od kastrace. To přináší důkaz, že gonadální androgeny jsou sice

velmi důležité pro sexuální chování, ale ne úplně nezbytné. Tato skutečnost nebyla ověřena androgenovými implantáty a hladiny hormonů během experimentů nebyly kontrolovány. Autoři se nezmiňují o receptivitě samic, které sloužily jako stimul pro samce a navíc, přestože měly možnost pohybu, byli při testování uvázané.

Eumeces laticeps

→ Cooper a kol. (1987) – U *Eumeces laticeps* je nápadné zbarvení hlavy spojeno s vysokými hladinami androgenů. Po vyjmutí gonád samci nepředvádějí žádné sexuální chování a zbarvení přestane být nápadné. Kastrovaní samci byli testováni se samicí až měsíc po kastraci. Poté jim byl dán implantát a do měsíce bylo sexuální chování obnoveno. Ovšem v této studii nebyli použiti intaktní samci jako kontrola a sami autoři se zmiňují, že ve stejném období je absence sexuálního chování typická pro samce po reprodukční sezóně. Takže je tu možnost, že sexuální chování se snížilo v souladu s přirozeným cyklem, ne v důsledku kastrace. Hladiny hormonů nebyly během testování měřeny. Proto by bylo potřeba experiment zopakovat a mít srovnání s intaktními samci. Ale T zřejmě obnoví sexuální chování i u samců mimo reprodukční období.

Uta stansburiana

→ Ferguson (1966) – experiment, který ukazuje, že T dodaný samcům po rozmnožovací sezóně zesiluje sexuální chování oproti kontrolním samcům. Jako sexuální chování bylo hodnoceno obcházení samice a pokusy o její olíznutí. Žádné kastrace nebyly provedeny, hodnoty pohlavních hormonů nebyly sledovány a část samic, které sloužily jako stimul pro samce, pocházela z jiného experimentu, kde se zkoumal vliv FSH na receptivitu samic.

Paroedura picta

→ Golinski a kol. (2011a – poster) prováděli hormonální manipulace na samcích i samicích tohoto druhu gekona. Při následném behaviorálním testování se ukázalo, že kastrace zruší samčí sexuální chování (u tohoto druhu se nevyskytuje fáze dvoření) a T implantáty toto chování vyvolají u kastrovaných samců i u samic kopulační chování. Toto chování je tedy pravděpodobně aktivováno u obou pohlaví dodaným T. Ovšem behaviorální testování probíhalo až po šesti měsících, proto mohlo sexuální chování vyhasnout i kdyby se jednalo o dočasnou organizaci.

b) Kastrace reprodukční chování nenarušila (alespoň po dobu testování)

Coleonyx elegans

→ Golinski a kol. (2011b) – tato experimentální práce odhalila, že kastrace samců *C. elegans* nenaruší sexuální chování (u tohoto druhu gekončíka se nevyskytuje fáze dvoření a nevyvolají ji ani T implantáty), kastráti se páří stejně jako intaktní samci nebo jako kastráti s T implantáty i během testů prováděných až po 10 týdnech od kastrace. Hladina T u kastrátů byla velmi nízká oproti zbylým dvěma skupinám samců, takže kastrace byla provedena úspěšně. Z čehož je pravděpodobné, že sexuální

chování je nezávislé na T. Ovšem stejná T terapie vyvolá sexuální chování u samic. Takže lze předpokládat, že samice mají nervové obvody, které jsou citlivé v dospělosti na T. Autoři se domnívají, že za zdánlivě rozporuplnými výsledky by mohla stát takzvaná dočasná organizace nervových drah v dospělosti díky delšímu vystavení příslušným hormonům. V přítomnosti hormonů je předpokládán stejný výsledek jako u aktivovaného chování, ovšem efekt přetrvává po nějakou dobu i při nízké hladině hormonů.

3.3 „Dissociated breeders“

Sem se řadí druhy, u kterých mohou být zaznamenány zvýšené koncentrace pohlavních hormonů během reprodukčního období, ale úzká provázanost a nezbytnost přítomnosti pohlavních hormonů nebyla kastrací ani implantáty prokázána.

Thamnophis sirtalis parietalis

→ (Camazine a kol. 1980; Crews a kol. 1984; Crews 1991; review Krohmer 2004) - přestože hladiny androgenů na počátku reprodukční sezóny jsou často zvýšené, kastrace před zimní hibernací ani po ní chování nenaruší. A implantáty T chování nevyvolají u samců mimo jejich přirozenou rozmnožovací sezónu. Je velmi pravděpodobné, že zde hraje roli jiný spouštěč sexuálního chování. Ovšem i androgeny hrají svou roli. Důležité je vystavení androgenům alespoň po několik týdnů během léta. Možná že jsou nervové obvody naprogramovány androgeny několik měsíců dopředu před vlastním rozmnožováním.

4. Přehled experimentálních prací u nejprozkoumanějších druhů

4.1 *Anolis carolinensis*

4.1.1 Role testosteronu:

U *Anolis carolinensis* bylo v několika experimentálních pracích pozorováno, že samčí sexuální chování je závislé na hladinách testosteronu, poskytnutí T kastrátům způsobilo obnovení náležejícího chování na rozdíl od kontrolních kastrátů, kterým nebyl T dodán (Mason a Adkins 1976; Crews a kol. 1978; Adkins a Schlesinger 1979; Winkler a Wade 1998; Rosen a Wade 2000). Mason a Adkins (1976) ale pozorovali jen dvoření (houpavé pohyby hlavou s nápadně roztaženým hrdelním lalokem) a ne páření, patrně proto, že samice, které sloužily jako stimul nebyly receptivní.

Shodný efekt zvýšené hladiny T byl také objeven i u dospělých samic (Noble a Greenberg 1941; Mason a Adkins 1976; Adkins a Schlesinger 1979), což naznačovalo, že T je schopný v dospělosti navodit typicky samčí sexuální chování v podobné míře u obou pohlaví. Další experiment (Winkler a Wade 1998) ale ukázal výraznější rozdíl mezi samci a samicemi v reakci na podání T, což nasvědčuje spíše určitému organizačnímu efektu během vývoje. Podobně jako u dalších skupin obratlovců, byla experimenty s T a TP implantáty potvrzena důležitá role mozkové oblasti *anterior*

hypothalamus-area preoptica (AH-POA) ve zprostředkování samčího reprodukčního chování (Morgantaler a Crews 1978).

Dalším zajímavým poznatkem bylo naměření vyšších hladin T ve žloutku vajec, ze kterých se mají vylíhnout samci (Lovern a kol. 2001), otázkou zůstává, jakého je původu. Autoři předpokládají, že by mohl pocházet od matky, protože v tomto stádiu vývoje embrya ještě nedochází rozvoji gonád, které jsou v dospělosti významným zdrojem T. Samci mají vyšší hladiny cirkulujícího T než samice a to v dospělosti i v juvenilním věku, navíc samci v reprodukční sezóně mají hladiny vyšší než samci mimo reprodukční sezónu (Lovern a kol. 2001). Současně velikost neuronů v mozkových oblastech POA a AMY je větší během rozmnožovací sezóny, proto by se dalo předpokládat, že T způsobuje tyto sezónní změny, ale překvapivě testosteron dodaný mimo rozmnožovací sezónu velikost neuronů neovlivní (O'Bryant a Wade 2002).

4.1.2 Role estrogenů:

Aromatizace T na estrogeny zřejmě není nezbytná pro samčí sexuální chování (i když na samičí receptivitu má vliv), protože systemické podávání estradiolu u *A.carolinensis* (Mason a Adkins 1976; Crews a kol. 1978; Winkler a Wade 1998,) i u příbuzného druhu *A.sagrei* (Tokarz 1986) mělo malý nebo žádný účinek na obnovu maskulinního chování kastrátů. Stejně tak inhibitor aromatázy fadrozol zřejmě u samců nesnižuje sexuální chování (Winkler a Wade 1998). Ale v další práci podávání E₂ samcům během reprodukční sezóny způsobilo zvýšení počtu jejich pokusů o vylezení na samici (tzv. *mounting* – obvykle považováno za součást kopulačního chování) (Latham a Wade 2010). A implantáty E₂ do oblasti *anterior hypothalamus-area preoptica* vyvolaly u kastrováných samců *A.carolinensis* sexuální chování (Crews a Morgantaler 1979). E₂ tak může mít důležitou roli v kontrole samčího reprodukčního chování, ovšem vzhledem k poněkud rozporupným výsledkům není možné udělat jednoznačný závěr.

4.1.3 Role dihydrotestosteronu:

Úloha 5 α -reduktázy v kontrole samčího sexuálního chování není u anolise ještě přesně známa. Intrahypothalamové implantáty DHT u kastrováných samců obnovily fázi dvoření (Crews a Morgantaler 1979) a podkožní implantáty i injekce DHT obnovily sexuální chování u kastrátů na úroveň nemanipulovaných samců *A. carolinensis* (Adkins a Schlesinger 1979), stejně tak u *A. sagrei* (Tokarz 1986). Ale v dalším experimentu pouze podávání DHT spolu s E₂ u poloviny jedinců dokázalo vyvolat dvoření, samotný DHT byl neúčinný (Crews a kol. 1978). Dále bylo vyzkoumáno, že 5 α -reduktáza je nezbytná pro správný efekt T na samčí dvoření ale už ne na kopulaci (jak se zjistilo v experimentech s inhibitorem reduktázy), také samotný DHT nemá významný vliv na samčí sexuální chování kastrátů (Rosen a Wade 2000). Z těchto výsledků vyplývá, že ačkoliv konverze T na metabolity je důležitá, hlavní roli v regulaci sexuálního chování má patrně samotný testosteron.

4.2 *Eublepharis macularius*

Gekončík noční patří mezi skupinu plazů s teplotním určením pohlaví (TSD), pro kterou je charakteristické, že pohlaví není určeno pohlavně-specifickým genotypem (review Bull 1980; Viets a kol. 1993). Právě z toho důvodu gekončík slouží jako dobrý model pro zkoumání vlivu okolí (například inkubační teplota) odděleně od vlivu pohlaví. Porovnávání znaků mezi jedinci opačného pohlaví pocházejících z jedné inkubační teploty ukáže vliv pohlaví a porovnávání jedinců jednoho pohlaví z různých inkubačních teplot upozorní na vliv teploty během embryogeneze (Crews a kol. 1998). Při inkubační teplotě 26 °C se líhnou výhradně samice (jedná se o takzvanou „*all-female temperature*“), teplota 30 °C přináší zhruba 75 % samic („*female-biased temperature*“), 32,5 °C 75 % samců („*male-biased temperature*“) a 34 °C přináší opět zhruba 95 % samic (Viets a kol. 1993).

4.2.1 Inkubační teplota, pohlaví a chování

Teplota během inkubace vajec a gonadální pohlaví ovlivňuje trvale morfologii, fyziologii i chování (Flores a kol. 1994; Flores a Crews 1995; Rhen a Crews 1999; Rhen a Crews 2000; Sakata a Crews 2003). Rozdíly mezi samci a samicemi ve schopnosti předvádět typické sexuální chování jsou dány převážně během vývoje organizačním efektem inkubační teploty a pohlaví a v dospělosti rozdílnými hodnotami cirkulujících hormonů (Flores a kol. 1994; Flores a Crews 1995; Tousignant a Crews 1995; Coomber a kol. 1997; Rhen a Crews 1999; Rhen and Crews 2000). Navíc jedinci pocházející z různých inkubačních teplot se liší svojí senzitivitou ke steroidním hormonům (Crews a kol. 1996a). Je všeobecně známo, že samice z převážně *male-biased temperature* jsou více agresivní, méně atraktivní, větší a s více maskulinizovanou fyziologií i chováním než samice pocházející z teplot, kdy se líhne více samic (Flores a kol. 1994; Tousignant a Crews 1995) a samci z *male-biased temperature* jsou více agresivní a méně sexuálně aktivní vůči samicím než samci pocházející ze samičích teplot (Flores a kol. 1994; Rhen a Crews 1999). Samice z *male-biased temperature*, jejichž pohlaví bylo hormonálně indukováno během inkubace pomocí aplikace estrogenu, byly více atraktivní než samice, které se v této teplotě vyvinuly přirozeně, v agresivitě se ale nelišily (Flores a kol. 1994). Atraktivita je tak zřejmě ovlivněna hormonálními hladinami, zatímco agresivita spíše embryonální teplotou.

Není úplně jasné, jak teplota způsobuje tyto zmíněné rozdíly, jsou pravděpodobné dvě hypotézy. Jedna říká, že teplota ovlivňuje během embryogeneze metabolismus pohlavních hormonů, což má pak pleiotropní účinek na určení pohlaví, diferenciaci mozkových oblastí a chování. Druhá hypotéza navrhuje, že teplota může mít přímý vliv na behaviorální a neurální diferenciaci (Rhen a Crews 1999). Druhou hypotézu podporuje i zjištění, že v oblasti AH a POA jsou neurony citlivé na teplotu a na pohlavní hormony (Cabanac a kol. 1967 podle Rhen a Crews 1999). Vliv inkubační teploty na chování v dospělosti je často připodobňován k fenoménu intrauterinní pozice u savců, kdy záleží na tom, jakého

pohlaví jsou sousední embrya v děloze. Samec mezi dvěma samicemi má pak více femininích znaků než samec mezi dvěma samci a pro samice to platí opačně (například práce vom Saal 1981)

4.2.2 Hormonální manipulace a sexuální chování

Zatímco kastrovaní samci reagují jak na terapii T, tak jeho metabolitů jako je E_2 i DHT sexuálním chováním, samice pocházející ze stejných inkubačních teplot na podávání E_2 ani DHT takto nereagují, reagují jen na T, a to ještě v omezené míře (Rhen a Crews, nepublikovaná data citovaná v Crews a kol. 1998; Rhen a Crews 1999). Samci a samice jsou tedy odlišně vnímaví k pohlavním hormonům, i když pocházejí ze stejných teplot.

Průměrná doba, po kterou samec provádí pachové značení, je pravděpodobně ovlivněna pohlavím a aktivována v dospělosti pohlavními hormony – samice nikdy neznačkují bez ohledu na inkubační teplotu, ani když se jim dodají androgeny v množství, které toto chování spouští u kastrovaných samců (Rhen a Crews 1999). Přestože nemanipulované intaktní samice také nikdy nepředvádí vibrace ocasem, což je další typická součást samčího dvoření, polovina samic pocházejících z *all-female temperature* a třetina samic z *male-biased temperature* byla schopná po kastraci a následné implantaci T toto chování vůči intaktní samicím předvést (Flores a Crews 1995). V další studii (Crews a kol. 1996) se samice více ochotně dvořily, když pocházely z *male-biased temperature* než z *all-female temperature*, ale naměřená frekvence a doba trvání vibrování byla u samic výrazně nižší než u samců (Rhen a Crews 1999). Tento znak by mohl být hormony aktivován v dospělosti u obou pohlaví, protože je zřejmě potřeba zvýšených hladin androgenů, aby začal být předváděn.

Takzvaný *body-grip* (zakousnutí se do kůže samice v oblasti krku nebo ocasu), který předvádějí samci, když se pokoušejí o kopulaci, je zřejmě organizován během vývoje hormonálními hladinami, samice tento znak nedemonstrují nikdy, ani jako kastrované s androgenovými implantáty (Rhen a Crews 1999). Samci *body-grip* předvádějí v určité míře i po kastraci, takže vysoké hladiny androgenů nebudou nezbytné pro spouštění tohoto chování, alespoň v porovnání s dvořením.

Manipulované samice s androgenovými implantáty jsou více agresivní a musí také čelit více útokům od samců a to pravděpodobně kvůli maskulinizaci jejich pachu, jsou také méně atraktivní pro samce. V menší míře než samci vibrují ocasem v reakci na samičí stimul, ale nikdy nepředvádějí *body-grip* (Rhen a kol. 1999). Tyto efekty mohou přetrvávat i nějakou dobu po odstranění implantátu (Flores a Crews 1995).

4.2.3 Hladiny pohlavních hormonů a kopulační orgány

Intaktní samci mají nižší hladinu estrogenů (Crews a kol. 1996) a vyšší hladiny T a DHT než intaktní samice (Tousignant a Crews 1995; Crews a kol. 1996). Hladinami androgenů se liší již od vylíhnutí, zatímco u samců v juvenilním věku hladiny narůstají, u samic se s věkem příliš nemění. Ve dvou týdnech po vylíhnutí byly naměřeny hodnoty cirkulujícího T u samců 10× vyšší než u samic, v 25

týdnech dokonce 90× vyšší u samců než u samic (Rhen a kol. 2005). Zatímco se samci a samice svými hodnotami pohlavních hormonů i ve stáří dvou týdnů liší, navenek podle morfologie rozeznatelní nejsou. Je to dáno tím, že hladiny T jsou menší než 10 ng.ml⁻¹, což odpovídá hladinám naměřeným u dospělých intaktních samic (Rhen a kol. 2000). Preanální póry a kopulační orgány jsou u samců obvykle vyvinuté ve věku 10 týdnů, kdy jsou hladiny T již vyšší než 18 ng.ml⁻¹ (Rhen a kol. 2005). Hraniční hladina T pro vývoj pohlavních struktur by měla pravděpodobně nastat mezi druhým a 10. týdnem života a hodnoty T by měly být nad tuto hranici zvýšené alespoň dva týdny. Ke stejným závěrům se došlo i v experimentech se samicemi. Samice s testosteronovou terapií vyvinuly tyto struktury již po dvou týdnech od implantace, samice s implantáty vloženými jen na osm dní struktury nevytvořily (Rhen a kol. 1999). Kastrace způsobí jejich regresi u samců (Rhen a Crews, nepublikovaná data citovaní v Rhen a kol. 2005), androgenová terapie má za následek významný rozvoj těchto struktur i u dospělých intaktních samic, pocházejících z různých inkubačních teplot (Rhen a kol. 1999; Holmes a kol. 2005). Vývoj a udržování samčích kopulačních orgánů jsou tak s největší pravděpodobností řízeny androgeny.

Samice *Eublepharis macularius* jsou neobvyklé v tom, že v intaktním stavu mají zachované rudimentální kopulační orgány, svaly, které je ovládají a také příslušné motoneurony (takzvaný kopulační neuromuskulární systém), evertovatelné kopulační orgány mají ale jen samice, kterým se experimentálně zvýší hladiny androgenů minimálně na dva týdny (Rhen a kol. 1999; Holmes a kol. 2005). Proč jsou tyto znaky v malé míře zachované i u intaktních rozmnožujících se samic není zatím jasné. Pozoruhodné je, že ačkoliv samice po čtyřech týdnech od implantace mají evertovatelné kopulační orgány (Holmes a kol. 2005), po stejně dlouhé terapii předvádějí jen omezené samčí sexuální chování – v menší míře vibrace ocasem, ale *body-grip* nikdy (Rhen a Crews 1999).

Dále byl u plazů zkoumán kopulační orgán a jeho doprovodný neuromuskulární systém jen u *Anolis carolinensis*, kde samicím tyto struktury chybí, mizí během embryonálního vývoje a tento efekt nemůže být zvrácen ani podáváním T mladým samicím, podobně jako je tomu u většiny obratlovců (Ruiz a Wade 2002; Holmes a Wade 2004; Lovern a kol. 2004).

4.2.4 Vliv předchozích sociálních zkušeností

Dvoření a vlastní kopulace nejsou u samců *E. macularius* významně ovlivněny předchozími zkušenostmi se samicemi, mezi zkušenými a nezkušenými jedinci nebyl signifikantní rozdíl, a to ani po kastraci. Výraznější efekt měly předchozí zkušenosti na agresivitu samců a teritoriální značení. Po dodání T kastrátům byla u zkušených samců pozorována větší tendence ke dvoření než u nezkušených, ale rozdíl nebyl signifikantní a zkušení intaktní samci také nechávali více pachových stop, když byli přeneseni do neznámého terária (Sakata a kol. 2002a). Podle nepublikovaných dat zmiňovaných v práci Sakata a kol. (2002a) vyplývá, že intaktní zkušení samci, kteří více značkují v prázdném teráriu, se pak s větší pravděpodobností budou dvořit samicím než intaktní nezkušení samci, kteří značkují méně. Intaktní zkušení samci měli naměřené vyšší hladiny androgenů než samci chovaní po celý život

v izolaci, ale vliv věku nebyl prokázán. Jednoletí versus dvou až tříletí jedinci se nelišili v hormonálních hladinách, ale sami autoři upozorňují na to, že gekončící se dožívají vyššího věku (až 15 let v zajetí) a rozdíl jednoho roku mezi srovnávanými jedinci nemusel být dostatečný pro zaznamenání rozdílu (Crews a kol. 1997). Vliv zkušeností a věku na mozkové oblasti je rozebírán v další části.

4.2.5 Mozkové oblasti

Velikost POA a VMH (*ventromedial hypothalamus*) se výrazně neliší mezi pohlavími v rámci jedné inkubační teploty, ale liší se mezi různými inkubačními teplotami v rámci jednoho pohlaví, velikost těchto oblastí je tak závislá na teplotě, kterou embrya zažila během svého vývoje (Coomber a kol. 1997), například samci z *male-biased temperature* mají oblast POA větší než samci z *female-biased temperature*, ale metabolická aktivita byla naměřena vyšší u samců z *female-biased temperature*. Rozdíl ve velikosti POA a VMH mezi zkušenými a nezkušenými samci nebyl nalezen, metabolická kapacita těchto oblastí byla ale větší u samců, kteří byli zkušení. Mladší samci měli větší oblasti POA a VMH než starší samci pocházející ze stejné teploty, ale metabolická kapacita byla výraznější u starších samců (Crews a kol. 1997). U samců a samic ze stejné teploty se po kastraci velikost POA snižuje a velikost VMH zvětšuje. U kastrováných samic s testosteronovou terapií se zvětšuje POA a snižuje VMH jen pokud pocházejí z teplot, při kterých se vyvíjí většina samců, samice z teploty, která dává vzniknout výhradně samicím, na kastraci ani na dodání T nereagují změnou v POA ani VMH. T tak působí velmi podobně na obě pohlaví ze stejné teploty a jeho účinky se liší mezi samicemi z různých teplot. To hovoří spíše pro přímý organizující účinek teploty během inkubace na mozkové oblasti než pro vliv gonadálního pohlaví a pohlavních hormonů u gekončika nočního (Crews a kol. 1996). Ale stejná terapie u obou pohlaví *Aspidoscelis inornatus*, přináší jiné výsledky. Zatímco u samců jsou oblasti AH-POA a VMH citlivé na kastraci a následné dodání T, samice nereagují na kastraci ani na implantáty T změnou ve velikosti příslušných mozkových oblastí. T má tak jiný efekt u každého pohlaví, což je rozdíl v porovnání s výsledky u gekončika nočního. (Wade a kol. 1993 podle Crews a kol. 1996a)

Oblasti POA, VMH, DVR (*dorsal ventricular ridge*) a SEP (*septum*) měnily u gekončků v závislosti na hormonální manipulaci velikost a metabolickou kapacitu, a to hlavně u jedinců pocházejících z *male-biased temperature* (Crews a kol. 1996). Vyšší metabolická aktivita byla naměřena v oblastech POA a AH u intaktních samců a ve VMH u samic, takže zde má pohlaví zřejmý vliv na tento znak (Coomber a kol. 1997). Ve stejné studii se zjistilo, že metabolická kapacita je zřejmě u samců ze samičí teploty v POA větší. Expres androgen-receptorové mRNA byla potvrzena v mozkových strukturách, jako je POA, AH, VMH a AME (vnější jádro amygdaly, external nucleus of amygdala), a ostatních strukturách jako je hemipenis nebo vejcovod (Rhen a Crews 2001).

Edwards a kol. (2004) dokázali narušit lézemi v oblasti AH-POA některé prvky konsumatorní fáze samčího rozmnožování (*mounting*, kopulace), apetitivní fáze byla ovlivněna méně (vibrace, *body-grip*).

4.3 Rod „*Cnemidophorus*“

Původní rod *Cnemidophorus*, byl v nedávné době ohodnocen jako parafylum a severoameričtí zástupci byli přeřazení do rodu *Aspidoscelis* (Reeder a kol. 2002). V rámci původního rodu *Cnemidophorus* došlo k několika hybridizačním událostem, jejichž výsledkem je část druhů polyploidních a partenogenetických: z přírody jsou pak známy pouze samice, které se unisexuálně množí (viz review Crews 2005). Vedle dceřiných asexuálních druhů stále existují sexuální druhy mateřské, a toto uspořádání představuje příležitost, jak zkoumat průběh vývoje mechanismů kontrolujících reprodukci a regulujících samčí sexuální chování. Takovým případem je často studovaná dvojice druhů: *Aspidoscelis inornatus* (dříve *Cnemidophorus inornatus*), figurující jako druh mateřský a *Aspidoscelis uniparens* (dříve *Cnemidophorus uniparens*), druh dceřiný a partenogenetický. Do dvou hybridizačních událostí, při kterých vznikl *Aspidoscelis uniparens*, byli pravděpodobně zapleteni jedinci *Aspidoscelis inornatus* a dalšího druhu, nejspíše *Aspidoscelis burti* (Wright 1993 podle Hillsman a kol. 2007)

4.3.1 *Aspidoscelis inornatus*

Dříve známý jako *Cnemidophorus inornatus* patří mezi sexuální druhy. Kastrace samců má výrazný snižující efekt na samčí dvoření a kopulaci, následně vložení implantátů s androgeny toto chování obnovuje (Sakata a kol. 2003), přičemž T je účinnější než DHT (Lindzey a Crews 1986). Je tedy velmi pravděpodobné, že chování je přímo asociované s přítomností gonád a gonadálních androgenů. Překvapivě ale také obnovuje samčí reprodukční chování podání progesteronu (P⁷) některým kastrovaným samcům (20-40 % jedinců: Lindzey a Crews 1986; Lindzey a Crews 1988; Crews a kol. 1996b; Sakata a kol. 2003). Samci reagující na P terapii jsou označováni jako P-senzitivní. Lindzey a Crews (1988) neobjevili žádný vztah mezi dávkou P a počtem senzitivních samců a silou odpovědi. Stejně účinný jako P se ukázal být i syntetický progestin R5020, který se ale nesnadno metabolizuje na androgeny či estrogeny (Lindzey a Crews 1988). Z toho vyplývá, že P zřejmě působí na sexuální chování sám o sobě a není nutná konverze na další steroidy. Pro tuto hypotézu hovoří i skutečnost, že současná terapie kastrátů implantáty s P a se syntetickým anti-progestinem (RU486) nedokázala obnovit sexuální chování. RU486 ale neovlivnil obnovu chování způsobenou DHT (Lindzey a Crews 1988). Rozdíly v sexuální aktivitě *A. inornatus* zřejmě nesouvisí přímo s rozdílnými hladinami pohlavních hormonů, ale závisí na odlišné vnímavosti vůči hormonům, způsobené organizačními rozdíly v mozku jedinců (Lindzey a Crews 1992). Samci vnímaví vůči P se s největší pravděpodobností zúčastnili

⁷ V dalším textu pro progesteron používána zkratka P

hybridizační události vedoucí ke vzniku dceřiného druhu *A. uniparens*, protože tento druh také reaguje na P, viz dále.

U intaktních samců *A. inornatus* podání P také prodlužuje sexuální chování na konci rozmnožovací sezóny oproti kontrole bez implantátů, u které mezitím došlo k regresi varlat a poklesu hladin endogenních androgenů (Lindzey a Crews 1986). V udržování chování u nemanipulovaných samců je P zřejmě úspěšnější než při obnově u kastrátů. Záleží také na tom, po jaké době od kastrace byly implantáty použity. Po třech týdnech s P implantátem vykazovalo sexuální chování 40 % jedinců kastrováných před kratší dobou (28 dní před implantací), oproti 0 % kastrováných před delší dobou (cca 8 měsíců před implantací) (Lindzey a Crews 1992). Autoři na základě těchto výsledků předpokládali, že vystavení androgenům je důležité pro účinek P na sexuální chování. V souladu s tímto předpokladem dále objevili, že nejvýraznější obnovu samčího sexuálního chování u kastrátů přináší terapie DHT implantáty s následovným vložení P implantátů (Lindzey a Crews 1992), což bylo potvrzeno i v další studii (Lindzey a Crews 1993). To dokazuje, že schopnost steroidních hormonů spouštět typické chování klesá s rostoucí dobou, která uplynula od kastrace a tedy i s dobou od recentního vlivu androgenů. Určitý vliv na sexuální chování mají i sociální zkušenosti. Sakata a kol. (2002b) pozorovali u zkušenějších samců déle přetrvávající sexuální chování po kastraci, v porovnání se samci, kteří byli po několika měsících drženi o samotě.

Lindzey a Crews (1986) přišli s několika možnostmi, jak by cirkulující P mohl regulovat sexuální chování: 1) může se vázat na androgenové receptory (AR) asociované s nervovými obvody, které sexuální chování ovládají, a aktivovat je, 2) P může být převeden na androgeny či estrogény, 3) PR mohou být spojené s oblastmi kontrolujícími sexuální chování, 4) P může regulovat produkci jiných látek, které regulují sexuální chování.

Na základě dalších zjištění (Lindzey a Crews 1986, 1988, 1993; Crews a kol. 1996b) vyplynulo, že konverze na androgeny a estrogény je méně pravděpodobná a AR je pravděpodobně více specifický receptor pro androgeny a důležitá mozková oblast AH-POA, účastníci se regulace sexuálního chování u většiny obratlovců, obsahuje androgenové i progesteronové receptory u *A. inornatus*.

Další experimenty byly zaměřeny na mozkové oblasti, které jsou považovány za důležitou součást v regulaci sexuálního chování. U samců po kastraci a následné terapii T dochází ke změnám ve velikosti příslušných oblastí. AH-POA se zvětšuje a VMH zmenšuje. Samice naopak neprojevují změny po kastraci ani po dodání T. To vypovídá zřejmě o organizačním efektu hormonů během vývoje (Wade a kol. 1993 podle Crews a kol. 1996b). Intrahypothalamové implantáty s P u P-senzitivních kastrováných samců účinně obnovují sexuální chování, ale u P-nesenzitivních je jich účinek nedostatečný (Crews a kol. 1996b). DHT implantáty přímo do oblast AH-POA jsou u kastrováných samců schopny vyvolat sexuální chování, přičemž implantáty do ostatních oblastí neměly účinek (Rozendaal a Crews 1989 -

abstrakt). Léze v oblasti AH-POA způsobí u samců vymizení sexuálního chování (Kingston a Crews 1994). Tyto výsledky vypovídají o tom, že oblast AH-POA je důležitá pro samčí sexuální chování.

4.3.2 *Aspidoscelis uniparens*

Původně *Cnemidophorus uniparens* je druh partenogenetický, triploidní, vzniklý hybridizační událostí. Ačkoliv se u tohoto druhu z přírody nejsou známi samci, jedinci mohou střídát mezi typicky samičím a samčím chováním (tzv. pseudokopulace) v závislosti na fázi ovariálního cyklu. Toto pseudosexuální chování bylo poprvé pozorováno v laboratoři (Crews a Fitzgerald 1980), ale brzy se zjistilo, že se jedná o přirozenou součást chování. Pseudokopulací se často projevují jedinci po ovulaci, kdy jsou hladiny progesteronu přirozeně zvýšené, kopulovaní jedinci jsou těsně před ovulací, s velkými zralými folikuly a s vysokou hladinou cirkulujícího E_2 (Crews a Fitzgerald 1980; Moore a Crews 1986). I když Moore a kol. (1985a) pozorovali pseudokopulační chování samic i v jiných fázích ovariálního cyklu než po ovulaci, dokonce i u samic před ovulací, přesto se všeobecně věří, že pseudokopulaci spouští zvýšená hladina P po ovulaci.

Pseudosexuální chování není jen vzpomínkou na původní gonochorismus, ale působí jako důležitá stimulace dozrávání vajíček a ovulace. I když přítomnost druhého jedince není nezbytně nutná, zvířata chovaná po dvojicích nebo ve skupinách měla lepší reprodukční úspěch (Gustafson a Crews 1981; Crews a kol. 1986). Ovulovalo jen 18 % samic *A. uniparens*, které obývaly terárium se samicí, které byly vyjmuty gonády a která nepředváděla pseudosexuální chování, zatímco ze samic, které žily společně se samicí, která dostala P implantát, ovulovalo 66 % (Crews a kol. 1986). U intaktních i kastrovaných samic typické samčí chování spouští tedy P (Grassman a Crews 1986 podle Crews a kol. 1986; Crews a kol. 1986; Sakata a kol. 2003).

Experimentální dodání exogenních androgenů intaktním nebo kastrovaným samicím *A. uniparens* má také za následek vyvolání pseudosexuálního chování u těchto parthenogenetických samic (Crews, nepublikovaná data citovaná v Gustafson a Crews 1981). Sakata a kol. (2003) navíc pozorovali silnější vliv T než P na obnovu sexuálního chování a po vyndání implantátů přetrvávalo toto typické chování déle u jedinců, kteří měli původně implantát s T. Přirozeně jsou však androgeny u *A. uniparens* během reprodukčního cyklu nedekovatelné (Moore a kol. 1985b). Na základě těchto výsledků, je pravděpodobné, že partenogenetické samice mají zachované mozkové dráhy citlivé právě i na androgeny.

Pseudosexuální chování samic je výrazně ovlivněno lézemi v mozkové oblasti AH-POA (Kingston a Crews 1994). U kastrovaných samic intrahypothalamové implantáty s androgeny chování obnovily, v jiných oblastech, například v VMH, byly neúčinné (Mayo a Crews 1987).

Unisexuální druh poskytuje experimentátorům unikátní příležitost, ke zkoumání, jak funguje determinace pohlaví a jak mohlo samčí pohlaví vymizet. Navíc je stále přítomný druh mateřský, a je

tedy možné tyto dva druhy porovnávat. Jedním ze způsobů, který umožnil porovnávání mezi jedinci, byl zvrát pohlaví. Díky experimentálnímu zablokováním aromatizace testosteronu během embryonálního vývoje vznikají jedinci (tzv *virago*), kteří jsou sice geneticky samice, ale mají varlata, probíhá u nich spermatogeneze a produkují pohyblivé spermie. Při testování s receptivní samicí předváděli samčí sexuální chování jako samci *A. inornatus* (Wennstrom a Crews 1995). Při srovnávací studii oblastí POA a VMH mezi samci a samicemi *A. inornatus* a jedinci *A. uniparens* vyšlo najevo, že samci *A. inornatus* mají oblasti POA větší a VMH menší než samice. Zároveň samice *A. uniparens* mají tyto mozkové oblasti srovnatelné spíše se samicemi *A. inornatus* (Crews a kol. 1990 - abstrakt). Proto se předpokládalo, že *virago A. uniparens* budou mít mozkové oblasti podobné samcům příbuzného gonochoristického druhu. Ale další srovnávací experimenty odhalily, že mají tyto struktury naopak stejně velké jako nemanipulované partenogenetické samice (Wennstrom a kol. 1999). Není tedy úplně jasné, jak je možné vytvořit jedince se „samičím mozkem“ a funkčními varlaty. Autoři (Wennstrom a kol. 1999) se domnívají, že aromatáza by mohla mít důležitou roli i při maskulinizaci samčího mozku. Dalším vysvětlením by mohla být hypotéza, podle které by organizace samčího mozku nebyla přímo závislá na androgenech, ale regulována přímo genetickým pohlavím.

4.3.3 Srovnání *A. inornatus* a *A. uniparens*

Kastrace ruší typické samčí sexuální chování u samců *A. inornatus* i u samic *A. uniparens* (Lindzey a Crews 1986; Sakata a kol. 2003). Systemické dodávání androgenů toto chování u obou obnoví (Crews, nepublikovaná data citovaná v Gustafson a Crews 1981; Lindzey a Crews 1986; Sakata a kol. 2003), stejně jako systemické dodání P obnoví pseudosexuální chování u samic *A. uniparens* a sexuální chování u části samců *A. inornatus* (Grassman a Crews 1986 podle Crews a kol. 1986; Crews a kol. 1986; Lindzey a Crews 1986, 1988; Sakata a kol. 2003). Léze v oblasti AH-POA naruší typické samčí chování u samců *A. inornatus* a pseudokopulační chování u samic *A. uniparens*, míra narušení odpovídá velikosti zničené oblasti (Kingston a Crews 1994), což dokazuje, že tato oblast je jako u dalších obratlovců zapojena do kontroly samčího sexuálního chování. To potvrdily i implantační studie DHT do oblasti AH-POA u *A. uniparens* (Mayo a Crews 1987) a stejně tak experimenty u *A. inornatus* (Rozendaal a Crews 1989 podle Kingston a Crews 1994). Přitom intrahypothalamové implantáty byly u kastrovaných P-senzitivních samců *A. inornatus* účinnější v obnově sexuálního chování než u P-nesenzitivních samců (Crews a kol. 1996b).

4.3.4 Spouští progesteron sexuální chování i u jiných druhů?

Výsledky, upozorňující na schopnost P spouštět sexuální chování u rodu *Aspidoscelis*, byly na svou dobu neočekávané, protože se věřilo, že P je hormon typický pro samice. Po dlouhou dobu panovalo přesvědčení, že P má spíše inhibující efekt na samčí sexuální chování. Tento efekt byl ale zřejmě způsoben farmakologickými dávkami používaných při experimentech (Witt a kol. 1994).

U plazů byl pozitivní vliv P na samčí sexuální chování nejdříve potvrzen u rodu *Aspidoscelis* (Lindzey a Crews 1986). Dalšími partenogenetickými druhy chovanými v laboratoři jsou *Aspidoscelis velox* (*Cnemidophorus velox*) a *Aspidoscelis tessellata* (*Cnemidophorus tessellatus*). U obou bylo také pozorováno pseudosexuální chování previtelogenních samic vůči samicím před ovulací (Crews a Fitzgerald 1980). Pozdější experimenty u anolise *Anolis carolinensis* (Young a kol. 1991 podle Lindzey a Crews 1993) přinesly důkazy, že P může rozmnožování stimulovat, nebo inhibovat v závislosti na použité dávce, vyšší spíše farmakologické dávky P sexuální chování inhibují. Později byl podobný účinek P objeven i u dalších obratlovců jako jsou potkani nebo myši (review Andersen a Tufik 2005).

4.4 *Thamnophis sirtalis*

Nejvíce prozkoumaný je poddruh užovky proužkované *Thamnophis sirtalis parietalis*. Jedná se o nejseverněji žijícího zástupce plazů v Severní Americe (obývá sever USA a Kanadu) (Aleksiuk a Gregory 1974), je pro něj charakteristické extrémně krátké rozmnožovací období - intenzivní páření během 4 dnů (Crews a kol. 1984), reprodukční sezóna v rámci 4 týdnů, navíc se mírně liší výsledky z laboratoře (Aleksiuk a Gregory 1974) a z přírody, kde navíc působí faktor počasí (Aleksiuk a Gregory 1974; Camazine a kol. 1980; Garstka a kol. 1982; Lutterschmidt a Mason 2009). Rozmnožování začíná ihned po probuzení ze zimní hibernace (konec dubna až počátek května), když jsou okolní teploty zvýšené (Aleksiuk a Gregory 1974). Samice vylučují feromon, který přitahuje samce a ti hromadně tvoří kolem samice takzvané pářící klubko.

Aktivita varlat začíná až po skončení rozmnožovací sezóny. Maximální rozvoj semenotvorných kanálků a zárodečného epitelu nastává současně s vrcholem spermatogeneze a zvýšenými hladinami testosteronu během pozdního léta, zralé spermie jsou ve *vas deferens* skladovány do další rozmnožovací sezóny (Garstka a kol. 1982). Zatímco páření na jaře probíhá během období, kdy jsou varlata v regresii, neprobíhá spermatogeneze, hladiny androgenů klesají a naopak hladiny kortikosteronu (glukokortikoid) jsou zvýšené (Aleksiuk a Gregory 1974; Camazine a kol. 1980; Crews a kol. 1984; Krohmer a kol. 1987). V původních experimentech byly po objevení po zimní hibernaci u *Thamnophis sirtalis parietalis* zaznamenány nízké hladiny T a odpovídaly tak přesně minimální gonadální aktivitě (Crews a kol. 1984), ale v dalších studiích (Krohmer a kol. 1987; Moore a kol. 2000a) byly hladiny testosteronu naměřené před přezimováním a krátce po probuzení srovnatelně zvýšené, během následujících 10-14 dnů po probuzení během rozmnožování prudce klesaly. Lutterschmidt a Mason (2009) navrhli na základě svých pozorování hypotézu, podle které záleží na době, která uplyne mezi letním vrcholem cirkulujících androgenů a počátkem hibernace. V teplejších letech je hibernace oddálená, hladiny testosteronu mezitím klesnou a na jaře jsou nižší, než můžeme pozorovat v chladnějších letech. V laboratoři výrazněji klesají hladiny T před hibernací, zřejmě kvůli vyšším teplotám než jsou typické v přirozeném prostředí (Krohmer 2004).

Na základě těchto a dalších experimentů a pozorování došli výzkumníci k názoru, že *Thamnophis sirtalis parietalis* patří mezi tzv. *dissociated breeders*. Kastrace před hibernací (Crews a kol. 1984; Crews 1991) ani po zimní hibernaci (Camazine a kol. 1980; Crews a kol. 1984) sexuální chování u samců nezruší, nezruší ho ani kastrace během předešlé reprodukční sezóny ještě před zvýšením gonadální aktivity, když jedinci stráví několik týdnů v podmínkách s nízkými teplotami (Crews a kol. 1984). Také se neúspěšně zkoušelo použití cyproterone acetátu, který má silný antiandrogenní účinek (Crews, nepublikovaná data citovaná v Crews a kol. 1984). Samice s vyjmutými gonádami, kterým byly experimentálně dodány exogenní androgeny, nedokázaly provést jednotlivé prvky samčího dvoření (Crews, nepublikovaná data citovaná v Crews a kol. 1993). Tyto skutečnosti přivedly experimentátory k názoru, že sexuální chování *Thamnophis sirtalis* nevyžaduje pro úspěšnou reprodukci v rozmnožovací sezóně přítomnost aktivních varlat ani intenzivnější hladiny cirkulujících pohlavních hormonů. Tendence k sexuálnímu chování byla pozorována i několik let po kastraci (samci pářili po 2,5 letech od kastrace ve 12 % testů), pokud byli jedinci vystaveni po určitou dobu nízkým teplotám přes zimu, a i po několika letech je dodaný testosteron schopný plně obnovit sexuální chování v rozmnožovacím období na hodnoty srovnatelné s intaktními jedinci (Crews 1991). Ale nasazení exogenního testosteronu mimo rozmnožovací sezónu nespustí rozmnožovací chování jak u intaktních ani u kastrováných samců. Sexuální chování je nezávislé i na nadledvinkách nebo hypofýze a na hormonech, které vylučují, jak se zjistilo po jejich odstranění, stejný efekt mělo odejmutí hypofýzy jak před tak i během zimní hibernace (Crews a kol. 1984). Také implantáty testosteronu do různých mozkových oblastí jako je AH-POA, thalamus, mediální kortex, třetí mozková komora a další, nedokázaly vyvolat u intaktních samců sexuální chování mimo reprodukční sezónu (Friedman a Crews 1985b), přičemž u jiných druhů (například u *Anolis carolinensis*) se tato metoda ukázala jako efektivní (Morgantaler a Crews 1978). Implantáty do AH-POA úspěšně dokázaly zvýšit hladiny cirkulujících androgenů, ale sexuální chování nezpůsobily. Bylo tak znovu potvrzeno, že samčí sexuální chování není na androgenech přímo závislé (Friedman a Crews 1985b). Terapie pohlavními hormony jako je T, E₂, DHT a DHT + E byla neúčinná také na intaktních nerozmnožujících jedincích *T. radix* (Camazine a Crews, nepublikovaná data citovaná v Garstka a kol. 1982), podávání neurohormonu arginin vasotocinu, který pochází z hypothalamu, ani melatoninu nebo dopaminu taktéž nemělo efekt u *T. sirtalis* (Garstka a kol. 1982). Jen léze v zóně AH-POA naruší sexuální chování, když se u samců provedou na jaře (Friedman a Crews 1985a) nebo před přezimováním (Krohmer a Crews 1987b). Ale implantáty T do stejné oblasti sexuální chování nenavodí (Friedman a Crews 1985b), takže AH-POA je zřejmě zapojena do regulace sexuálního chování. Zřejmě se však jedná o jiný mechanismus, který funguje bez vlivu pohlavních hormonů. Lézemi AH-POA se naruší i behaviorální termoregulace (bylo otestováno, že jedinci s lézemi se narozdíl od intaktních jedinců nepohybují směrem ke zdroji tepla), takže AH-POA zřejmě slouží také jako místo integrace informací o okolní teplotě (Krohmer a Crews 1987). Velikost

AH- POA se u samců mezi sezónami nemění a nemění se ani s hormonální manipulací (kastrace, nasazení T implantátů kastrátům), na rozdíl od jiných druhů (Crews a kol. 1993). Také odstranění epifýzy před počátkem hibernace zrušilo jarní rozmnožování (Nelson a kol. 1987). Autoři předkládají možnost, že epifýza je součástí systému, který rozpoznává změny teplot, zvíře s narušeným systémem pak správně nevnímá změny teploty. Tyto skutečnosti by mohly zásadně ovlivnit rozmnožovací chování tohoto druhu.

Další překvapivé zjištění přinesla experimentálně vytvořená léze v oblasti *nucleus sphaericus* (NS, považuje se za homolog savčí amygdaly), takto manipulovaní jedinci měli oproti intaktním kontrolám zvýšené hladiny androgenů a projevovali sexuální chování ve větším počtu behaviorálních testů. Autoři to považují za důkaz toho, že oblast AH-POA je pod centrální kontrolou NS (Krohmer a Crews 1987a).

Při testech reakce na stres z odchyty a držení v zajetí se také zjistilo, že u stresovaných zvířat klesají hladiny testosteronu 5,6× oproti nestresované kontrole, ale toto snížení se nijak neprojeví na sexuálním chování (Moore a kol. 2000a). Nedostatek reakce na stres je vysvětlován tak, že *Thamnophis* se snaží maximalizovat reprodukční úspěch v krátké rozmnožovací sezóně i během nepříznivých podmínek.

Velmi podobné výsledky z hlediska reprodukčního cyklu, načasování gametogeneze a hladin hormonů přinesly terénní studie na *Thamnophis sirtalis sirtalis* (Clesson a kol. 2002) a *Thamnophis sirtalis concinnus* (Moore a kol. 2000b). Ovšem autoři pouze pozorovali chování jedinců v přírodě a odebírali vzorky, bylo by třeba hormonálních manipulací pro prokázání shodného typu chování, jako můžeme najít u *Thamnophis sirtalis parietalis*.

Tyto skutečnosti vedly k názoru, že u *T. sirtalis* musí být zřejmě přítomný jiný mechanismus kontrolující rozmnožování, než u většiny zkoumaných druhů (androgeny), který mohl vzniknout jako adaptace na extrémní podmínky, během kterých by v rámci jednoho roku nestihl proběhnout celý reprodukční cyklus, a obrovskou kompetici mezi samci v krátkém období rozmnožování, které následuje ihned po procitnutí z hibernace (Saint Girons 1982). Proto se obvykle řadí do skupiny druhů s disociovanou reprodukční strategií (Crews 1984). Crews (1991) navrhl, že během léta zvýšené hladiny testosteronu mohou organizovat nervové dráhy, které jsou odpovědné za regulaci sexuálního chování, které je pak po procitnutí z hibernace nezávisle na cirkulujících hladinách stimulováno vyššími teplotami. Jedná se pak o tzv.sezónní organizaci nervové soustavy, která spolehlivě působí minimálně osm měsíců. Jako nejpravděpodobnější spouštěč sexuálního chování byla navržena změna teploty po delším chladnějším období (Aleksiuk a Gregory 1974; Garstka a kol. 1982), fotoperioda pravděpodobně vliv na reprodukci nemá (Aleksiuk a Gregory 1974; Nelson a kol. 1987).

Závěr

Z dostupných experimentálních prací a pozorování vyplývá, že testosteron je nepochybně důležitým hormonem pro samčí sexuální chování u plazů. Role dalších steroidních hormonů je ovšem stále poněkud nejistá, a to i u druhů, které jsou experimentálně zkoumány již několik desetiletí. Rozdílné výsledky mohou být ale také dány rozdílnými postupy v jednotlivých experimentech. Navíc je nutné mít stále na paměti, že jedinci chováni v laboratoři jsou povětšinou odděleni od přirozených podmínek a podnětů, se kterými by se setkali ve svém přirozeném prostředí ve volné přírodě. Z této práce dále vyplývá, že zařazování druhů do jednotlivých funkčních kategorií je určitě užitečné, ovšem ne vždy druhy přesně splňují podmínky dané kategorie. Je proto také nevhodné zevšeobecňovat pro celé skupiny získané výsledky, protože druhy pocházejí z různých podmínek a prostředí, působí na ně jiné evoluční tlaky. Navíc nejprozkoumanější z hlediska hormonální kontroly reprodukčního chování jsou zástupci ještěřů a to ještě jen několik rodů, které se úspěšně chovají v laboratoři. O dalších skupinách máme již méně informací a o některých dokonce žádné. Pro významnější závěry by bylo potřeba rozšířit skupinu zkoumaných druhů.

V rámci tohoto tématu tu je stále mnoho nevyřešených otázek a nejasností, pro jejichž vyřešení bude potřeba provést další objektivní studie s větším zkoumaným vzorkem jedinců a s větším ohledem na přirozené prostředí a evoluční minulost druhů.

Seznam použité literatury

- Adkins E, Schlesinger L (1979) Androgens and social-behavior of male and female lizards (*Anolis carolinensis*). *Hormones and Behavior* 13:139-152.
- Aleksiuk M, Gregory PT (1974) Regulation of seasonal mating-behavior in *Thamnophis sirtalis parietalis*. *Copeia*:681-689.
- Amey AP, Whittier JM (2000) Seasonal patterns of plasma steroid hormones in males and females of the bearded dragon lizard, *Pogona barbata*. *General and Comparative Endocrinology* 117:335-342.
- Andersen ML, Tufik S (2006) Does male sexual behavior require progesterone? *Brain Research Reviews* 51:136-143.
- Arnold AP, Breedlove SM (1985) Organizational and activational effects of sex steroids on brain and behavior – A reanalysis. *Hormones and Behavior* 19:469-498.
- Bradshaw SD, Owen FJ, Saintgiron H (1988) Seasonal changes in plasma sex steroid levels in the male tuatara, *Sphenodon punctatus*, from Stephens island, New Zeland. *General and Comparative Endocrinology* 70:460-465.
- Bradshaw SD, Girons HS, Bradshaw FJ (1991) Patterns of breeding in 2 species of agamid lizards in the arid subtropical Pilbara region of western Australia. *General and Comparative Endocrinology* 82:407-424.
- Bull JJ (1980) Sex determination in reptiles. *Quarterly Review of Biology* 55:3-21.
- Callard GV, Petro Z, Ryan KJ (1978a) Conversion of androgen to estrogen and other steroids in vertebrate brain. *American Zoologist* 18:511-523.
- Callard GV, Petro Z, Ryan KJ (1978b) Phylogenetic distribution of aromatase and other androgen converting enzymes in central nervous system. *Endocrinology* 103:2283-2290.
- Camazine B, Garstka W, Tokarz R, Crews D (1980) Effects of castration and androgen replacement on male courtship behavior in the red sided garter snake (*Thamnophis sirtalis parietalis*). *Hormones and Behavior* 14:358-372.
- Clesson D, Bautista A, Baleckaitis DD, Krohmer RW (2002) Reproductive biology of male eastern garter snakes (*Thamnophis sirtalis sirtalis*) from a denning population in central Wisconsin. *American Midland Naturalist* 147:376-386.
- Cooke B, Hegstrom CD, Villeneuve LS, Breedlove SM (1998) Sexual differentiation of the vertebrate brain: Principles and mechanisms. *Frontiers in Neuroendocrinology* 19:323-362.
- Coomber P, Crews D, GonzalezLima F (1997) Independent effects of incubation temperature and gonadal sex on the volume and metabolic capacity of brain nuclei in the leopard gecko (*Eublepharis macularius*), a lizard with temperature-dependent sex determination. *Journal of Comparative Neurology* 380:409-421.
- Cooper WE, Mendonca MT, Vitt LJ (1987) Induction of orange head coloration and activation of courtship and aggression by testosterone in the male broad-headed skink (*Eumeces laticeps*). *Journal of Herpetology* 21:96-101.
- Crews D (1984) Gamete production, sex hormone secretion, and mating behavior uncoupled. *Hormones and Behavior* 18:22-28.
- Crews D (1991) Trans-seasonal action of androgen in the control of spring courtship behavior in male red sided garter snakes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 88:3545-3548.
- Crews D (2005) Evolution of neuroendocrine mechanisms that regulate sexual behavior. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 16:354-361.
- Crews D, Morgentaler A (1979) Effects of intracranial implantation of estradiol and dihydrotestosterone on the sexual behavior of the lizard *Anolis carolinensis*. *Journal of Endocrinology* 82:373-381.
- Crews D, Fitzgerald KT (1980) Sexual behavior in parthenogenetic lizards (*Cnemidophorus*). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America-Biological Sciences* 77:499-502.

- Crews D, Grassman M, Lindzey J (1986) Behavioral facilitation of reproduction in sexual and unisexual whiptail lizards. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 83:9547-9550.
- Crews D, Robker R, Mendonca M (1993) Seasonal fluctuations in brain nuclei in the red sided garter snake and their hormonal control. *Journal of Neuroscience* 13:5356-5364.
- Crews D, Coomber P, GonzalezLima F (1997) Effects of age and sociosexual experience on the morphology and metabolic capacity of brain nuclei in the leopard gecko (*Eublepharis macularius*), a lizard with temperature-dependent sex determination. *Brain Research* 758:169-179.
- Crews D, Sakata J, Rhen T (1998) Developmental effects on intersexual and intrasexual variation in growth and reproduction in a lizard with temperature-dependent sex determination. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology* 119:229-241.
- Crews D, Traina V, Wetzel FT, Muller C (1978) Hormonal control of male reproductive behavior in lizard, *Anolis carolinensis* – Role of testosterone, dihydrotestosterone, and estradiol. *Endocrinology* 103:1814-1821.
- Crews D, Coomber P, Baldwin R, Azad N, GonzalezLima F (1996a) Brain organization in a reptile lacking sex chromosomes: Effects of gonadectomy and exogenous testosterone. *Hormones and Behavior* 30:474-486.
- Crews D, Camazine B, Diamond M, Mason R, Tokarz RR, Garstka WR (1984) Hormonal independence of courtship behavior in the male garter snake. *Hormones and Behavior* 18:29-41.
- Crews D, Godwin J, Hartman V, Grammer M, Prediger EA, Sheppherd R (1996b) Intrahypothalamic implantation of progesterone in castrated male whiptail lizards (*Cnemidophorus inornatus*) elicits courtship and copulatory behavior and affects androgen receptor- and progesterone receptor-mRNA expression in the brain. *Journal of Neuroscience* 16:7347-7352.
- Edwards N, Kriegsfeld L, Crews D (2004) Neural substrates for sexual and thermoregulatory behavior in the male leopard gecko, *Eublepharis macularius*. *Brain Research* 1029:77-83.
- Ferguson GW (1966) Effect of follicle-stimulating hormone and testosterone propionate on reproduction of side blotched lizard *Uta stansburiana*. *Copeia*:495-498.
- Flores D, Tousignant A, Crews D (1994) Incubation temperature affects the behavior of adult leopard geckos (*Eublepharis macularius*). *Physiology & Behavior* 55:1067-1072.
- Flores DL, Crews D (1995) Effect of hormonal manipulation on sociosexual behavior in adult female leopard geckos (*Eublepharis macularius*), a species with temperature-dependent sex determination. *Hormones and Behavior* 29:458-473.
- Friedman D, Crews D (1985a) Role of the anterior hypothalamus - preoptic area in the regulation of courtship behavior in the male canadian red sided garter snake (*Thamnophis sirtalis parietalis*) – Lesion experiments. *Behavioral Neuroscience* 99:942-949.
- Friedman D, Crews D (1985b) Role of the anterior hypothalamus - preoptic area in the regulation of courtship behavior in the male canadian red sided garter snake (*Thamnophis sirtalis parietalis*) – Intracranial implantation experiments. *Hormones and Behavior* 19:122-136.
- Garstka WR, Camazine B, Crews D (1982) Interactions of behavior and physiology during the annual reproductive cycle of the red sided garter snake (*Thamnophis sirtalis parietalis*). *Herpetologica* 38:104-123.
- Golinski A, Kubicka L, Brynildsen T, Kratochvil L, John-Alder H (2011a) Androgen-dependence of Male-typical Sexual and Aggressive Behavior in *Paroedura picta*; A Comparative Study in Gecko Lizards - poster
- Golinski A, John-Alder H, Kratochvil L (2011b) Male sexual behavior does not require elevated testosterone in a lizard (*Coleonyx elegans*, *Eublepharidae*). *Hormones and Behavior* 59:144-150.
- Graham SP, Earley RL, Hoss SK, Schuett GW, Grober MS (2008) The reproductive biology of male cottonmouths (*Agkistrodon piscivorus*): Do plasma steroid hormones predict the mating season? *General and Comparative Endocrinology* 159:226-235.
- Greenberg N, Scott M, Crews D (1984) Role of the amygdala in the reproductive and aggressive behavior of

- the lizard, *Anolis carolinensis*. *Physiology & Behavior* 32:147-151.
- Gustafson JE, Crews D (1981) Effect of group size and physiological state of cagemate on reproduction in the parthenogenetic lizard, *Cnemidophorus uniparens* (Teiidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 8:267-272.
- Haider S, Rai U (1986) Effects of cyproterone acetate and flutamide on the testis and epididymis of the indian wall lizard, *Hemidactylus flaviviridis* (Ruppell). *General and Comparative Endocrinology* 64:321-329.
- Hiipakka RA, Liao SS (1998) Molecular mechanism of androgen action. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 9:317-324.
- Hillsman KD, Sanderson NS, Crews D (2007) Testosterone stimulates mounting behavior and arginine vasotocin expression in the brain of both sexual and unisexual whiptail lizards. *Sexual Development* 1:77-84.
- Holmes MM, Wade J (2004) Seasonal plasticity in the copulatory neuromuscular system of green anole lizards: A role for testosterone in muscle but not motoneuron morphology. *Journal of Neurobiology* 60:1-11.
- Holmes MM, Wade J (2005) Testosterone regulates androgen receptor immunoreactivity in the copulatory, but not courtship, neuromuscular system in adult male green anoles. *Journal of Neuroendocrinology* 17:560-569.
- Holmes MM, Putz O, Crews D, Wade J (2005) Normally occurring intersexuality and testosterone induced plasticity in the copulatory system of adult leopard geckos. *Hormones and Behavior* 47:439-445.
- Hondo E, Kurohmaru M, Toriba M, Hayashi Y (1994) Seasonal changes in spermatogenesis and ultrastructure of developing spermatids in the japanese rat snake, *Elaphe climacophora*. *Journal of Veterinary Medical Science* 56:835-840.
- Johnson LF, Jacob JS, Torrance P (1982) Annual testicular and androgenic cycles of the cottonmouth (*Agkistrodon piscivorus*) in Alabama. *Herpetologica* 38:16-25.
- Jones SM, Wapstra E, Swain R (1997) Asynchronous male and female gonadal cycles and plasma steroid concentrations in a viviparous lizard, *Niveoscincus ocellatus* (Scincidae), from Tasmania. *General and Comparative Endocrinology* 108:271-281.
- Kendrick AM, Rand MS, Crews D (1995) Electrolytic lesions to the ventromedial hypothalamus abolish receptivity in female whiptail lizards, *Cnemidophorus uniparens*. *Brain Research* 680:226-228.
- Kingston PA, Crews D (1994) Effects of hypothalamic lesions on courtship and copulatory behavior in sexual and unisexual whiptail lizards. *Brain Research* 643:349-351.
- Krohmer RW (2004) The male red-sided garter snake (*Thamnophis sirtalis parietalis*): Reproductive pattern and behavior. *Ilar Journal* 45:65-74.
- Krohmer RW, Crews D (1987) Temperature activation of courtship behavior in the male red sided garter snake (*Thamnophis sirtalis parietalis*) – Role of the anterior hypothalamus–preoptic area. *Behavioral Neuroscience* 101:228-236.
- Krohmer RW, Grassman M, Crews D (1987) Annual reproductive cycle in the male red sided garter snake, *Thamnophis sirtalis parietalis* – Field and laboratory studies. *General and Comparative Endocrinology* 68:64-75.
- Lance VA (1989) Reproductive cycle of the american alligator. *American Zoologist* 29:999-1018.
- Latham S, Wade J (2010) Estradiol facilitates mounting behavior in male green anole lizards. *Physiology & Behavior* 99:78-81.
- Licht P (1982) Endocrine patterns in the reproductive cycle of turtles. *Herpetologica* 38:51-61.
- Lind CM, Husak JF, Eikenaar C, Moore IT, Taylor EN (2010) The relationship between plasma steroid hormone concentrations and the reproductive cycle in the Northern Pacific rattlesnake, *Crotalus oreganus*. *General and Comparative Endocrinology* 166:590-599.
- Lindzey J, Crews D (1986) Hormonal control of courtship and copulatory behavior in male *Cnemidophorus inornatus*, a direct sexual ancestor of a unisexual, parthenogenetic lizard. *General and Comparative*

Endocrinology 64:411-418.

- Lindzey J, Crews D (1988) Effects of progestins on sexual behavior in castrated lizards (*Cnemidophorus inornatus*). *Journal of Endocrinology* 119:265-273.
- Lindzey J, Crews D (1992) Interactions between progesterone and androgens in the stimulation of sex behaviors in male little striped whiptail lizards, *Cnemidophorus inornatus*. *General and Comparative Endocrinology* 86:52-58.
- Lindzey J, Crews D (1993) Effects of progesterone and dihydrotestosterone on stimulation of androgen dependent sex behavior, accessory sex structures, and in-vitro binding characteristics of cytosolic androgen receptors in male whiptail lizards (*Cnemidophorus inornatus*). *Hormones and Behavior* 27:269-281.
- Lovern MB, McNabb FMA, Jenssen TA (2001) Developmental effects of testosterone on behavior in male and female green anoles (*Anolis carolinensis*). *Hormones and Behavior* 39:131-143.
- Lovern MB, Holmes MM, Fuller CO, Wade J (2004) Effects of testosterone on the development of neuromuscular systems and their target tissues involved in courtship and copulation in green anoles (*Anolis carolinensis*). *Hormones and Behavior* 45:295-305.
- Lutterschmidt DI, Mason RT (2009) Endocrine mechanisms mediating temperature-induced reproductive behavior in red-sided garter snakes (*Thamnophis sirtalis parietalis*). *Journal of Experimental Biology* 212:3108-3118.
- Mahmoud IY, Licht P (1997) Seasonal changes in gonadal activity and the effects of stress on reproductive hormones in the common snapping turtle, *Chelydra serpentina*. *General and Comparative Endocrinology* 107:359-372.
- Mason P, Adkins EK (1976) Hormones and social behavior in lizard, *Anolis carolinensis*. *Hormones and Behavior* 7:75-86.
- Mayo ML, Crews D (1987) Neural control of male-like pseudocopulatory behavior in the all-female lizard, *Cnemidophorus uniparens* – Effects of intracranial implantation of dihydrotestosterone. *Hormones and Behavior* 21:181-192.
- Moore IT, Lemaster MP, Mason RT (2000a) Behavioural and hormonal responses to capture stress in the male red-sided garter snake, *Thamnophis sirtalis parietalis*. *Animal Behaviour* 59:529-534.
- Moore IT, Lerner JP, Lerner DT, Mason RT (2000b) Relationships between annual cycles of testosterone, corticosterone, and body condition in male red-spotted garter snakes, *Thamnophis sirtalis concinnus*. *Physiological and Biochemical Zoology* 73:307-312.
- Moore MC (1987) Castration affects territorial and sexual behavior of free-living male lizards, *Sceloporus jarrovi*. *Animal Behaviour* 35:1193-1199.
- Moore MC, Crews D (1986) Sex steroid hormones in natural populations of a sexual whiptail lizard *Cnemidophorus inornatus*, a direct evolutionary ancestor of unisexual parthenogen. *General and Comparative Endocrinology* 63:424-430.
- Moore MC, Whittier JM, Billy AJ, Crews D (1985) Male-like behavior in an all-female lizard – Relationship to ovarian cycle. *Animal Behaviour* 33:284-289.
- Morgantaler A, Crews D (1978) Role of anterior hypothalamus-preoptic area in the regulation of reproductive behavior in the lizard, *Anolis carolinensis* – Implantation studies. *Hormones and Behavior* 11:61-73.
- Nelson RJ, Mason RT, Krohmer RW, Crews D (1987) Pinealectomy blocks vernal courtship behavior in red sided garter snakes. *Physiology & Behavior* 39:231-233.
- Noble GK, Greenberg B (1941) Effects of seasons, castration and crystalline sex hormones upon the urogenital system and sexual behavior of the lizard (*Anolis carolinensis*) I The adult female. *Journal of Experimental Zoology* 88:451-479.
- Norris DO ed. (2007) *Vertebrate Endocrinology*. Fourth Edition. Elsevier Academic Press. ISBN-13:978-0-12-088768-2
- Norris DO, Lopez KH ed. (2011) *Hormones and Reproduction of Vertebrates, Volume 3 – Reptiles*.

Academic Press, ISBN-978-0-12-374930-7

- O'Bryant EL, Wade J (2002) Seasonal and sexual dimorphisms in the green anole forebrain. *Hormones and Behavior* 41:384-395.
- Ott JA, Mendonca MT, Guyer C, Michener WK (2000) Seasonal changes in sex and adrenal steroid hormones of gopher tortoises (*Gopherus polyphemus*). *General and Comparative Endocrinology* 117:299-312.
- Phillips JA, Millar RP (1998) Reproductive biology of the white-throated savanna monitor, *Varanus albigularis*. *Journal of Herpetology* 32:366-377.
- Phoenix CH, Goy RW, Gerall AA, Young WC (1959) Organizin action of prenatally administred testosterone propionate on the tissues mediating mating behavior in the female guinea pig. *Endocrinology* 65:369-382.
- Reeder TW, Cole CJ, Dessauer HC (2002) Phylogenetic relationships of whiptail Lizards of the genus *Cnemidophorus* (Squamata : Teiidae): A test of monophyly, reevaluation of karyotypic evolution, and review of hybrid origins. *American Museum Novitates*:1-61.
- Rhen T, Crews D (1999) Embryonic temperature and gonadal sex organize male-typical sexual and aggressive behavior in a lizard with temperature-dependent sex determination. *Endocrinology* 140:4501-4508.
- Rhen T, Crews D (2001) Distribution of androgen and estrogen receptor mRNA in the brain and reproductive tissues of the leopard gecko, *Eublepharis macularius*. *Journal of Comparative Neurology* 437:385-397.
- Rhen T, Ross J, Crews D (1999) Effects of testosterone on sexual behavior and morphology in adult female leopard geckos, *Eublepharis macularius*. *Hormones and Behavior* 36:119-128.
- Rhen T, Sakata IT, Crews D (2005) Effects of gonadal sex and incubation temperature on the ontogeny of gonadal steroid concentrations and secondary sex structures in leopard geckos, *Eublepharis macularius*. *General and Comparative Endocrinology* 142:289-296.
- Rhen T, Sakata JT, Zeller M, Crews D (2000) Sex steroid levels across the reproductive cycle of female leopard geckos, *Eublepharis macularius*, from different incubation temperatures. *General and Comparative Endocrinology* 118:322-331.
- Rosen GJ, Wade J (2000) The role of 5 alpha-reductase activity in sexual behaviors of the green anole lizard. *Physiology & Behavior* 69:487-498.
- Rostal DC, Owens DW, Grumbles JS, MacKenzie DS, Amoss MS (1998) Seasonal reproductive cycle of the Kemp's ridley sea turtle (*Lepidochelys kempi*). *General and Comparative Endocrinology* 109:232-243.
- Ruiz CC, Wade J (2002) Sexual dimorphisms in a copulatory neuromuscular system in the green anole lizard. *Journal of Comparative Neurology* 443:289-297.
- Saal FSV, Pryor S, Bronson FH (1981) Effects of prior intrauterine position and housing on estrous cycle lenght in adolescent mice. *Journal of Reproduction and Fertility* 62:33-37.
- Saintgirons H (1982) Reproductive cycles of male snakes and their relationship with climate and female reproductive cycles. *Herpetologica* 38:5-16.
- Saintgirons H, Bradshaw SD, Bradshaw FJ (1993) Sexual activity and plasma levels of sex steroids in the aspic viper *Vipera aspis* L (Reptilia, Viperidae). *General and Comparative Endocrinology* 91:287-297.
- Sakata JT, Crews D (2003) Embryonic temperature shapes behavioural change following social experience in male leopard geckos, *Eublepharis macularius*. *Animal Behaviour* 66:839-846.
- Sakata JT, Gupta A, Chuang CP, Crews D (2002a) Social experience affects territorial and reproductive behaviours in male leopard geckos, *Eublepharis macularius*. *Animal Behaviour* 63:487-493.
- Sakata JT, Gupta A, Gonzalez-Lima F, Crews D (2002b) Heterosexual housing increases the retention of courtship Behavior following castration and elevates metabolic capacity in limbic brain nuclei in male whiptail lizards, *Cnemidophorus inornatus*. *Hormones and Behavior* 42:263-273.

- Sakata JT, Woolley SC, Gupta A, Crews D (2003) Differential effects of testosterone and progesterone on the activation and retention of courtship behavior in sexual and parthenogenetic whiptail lizards. *Hormones and Behavior* 43:523-530.
- Schramm BG, Casares M, Lance VA (1999) Steroid levels and reproductive cycle of the Galapagos tortoise, *Geochelone nigra*, living under seminatural conditions on Santa Cruz Island (Galapagos). *General and Comparative Endocrinology* 114:108-120.
- Schuett GW, Harlow HJ, Rose JD, VanKirk EA, Murdoch WJ (1997) Annual cycle of plasma testosterone in male copperheads, *Agkistrodon contortrix* (Serpentes, Viperidae): Relationship to timing of spermatogenesis, mating, and agonistic behavior. *General and Comparative Endocrinology* 105:417-424.
- Schuett GW, Hardy DL, Greene HW, Earley RL, Grober MS, Van Kirk EA, Murdoch WJ (2005) Sympatric rattlesnakes with contrasting mating systems show differences in seasonal patterns of plasma sex steroids. *Animal Behaviour* 70:257-266.
- Swain R, Jones SM (1994) Annual cycle of plasma testosterone and other reproductive parameters in the tasmanian skink, *Niveoscincus metallicus*. *Herpetologica* 50:502-509.
- Taylor EN, DeNardo DF, Jennings DH (2004) Seasonal steroid hormone levels and their relation to reproduction in the Western Diamond-backed Rattlesnake, *Crotalus atrox* (Serpentes : Viperidae). *General and Comparative Endocrinology* 136:328-337.
- Tokarz RR (1986) Hormonal regulation of male reproductive behavior in the lizard *Anolis sagrei* – A test of the aromatization hypothesis. *Hormones and Behavior* 20:364-377.
- Tousignant A, Crews D (1995) Incubation temperature and gonadal sex affect growth and physiology in the leopard gecko (*Eublepharis macularius*), a lizard with temperature-dependent sex determination. *Journal of Morphology* 224:159-170.
- VanWyk JH (1995) The male reproductive cycle of the lizard, *Cordylus giganteus* (Sauria: Cordylidae). *Journal of Herpetology* 29:522-535.
- Viets BE, Tousignant A, Ewert MA, Nelson CE, Crews D (1993) Temperature-dependent sex determination in the leopard gecko, *Eublepharis macularius*. *Journal of Experimental Zoology* 265:679-683.
- Wennstrom KL, Crews D (1995) Making males from females – The effects of aromatase inhibitors on a parthenogenetic species of whiptail lizard. *General and Comparative Endocrinology* 99:316-322.
- Wennstrom KL, Blesius F, Crews D (1999) Volumetric analysis of sexually dimorphic limbic nuclei in normal and sex-reversed whiptail lizards. *Brain Research* 838:104-109.
- Wheeler JM, Crews D (1978) Role of the anterior hypothalamus-preoptic area in the regulation of male reproductive behavior in the lizard, *Anolis carolinensis* – Lesion studies. *Hormones and Behavior* 11:42-60.
- Winkler SM, Wade J (1998) Aromatase activity and regulation of sexual behaviors in the green anole lizard. *Physiology & Behavior* 64:723-731.
- Witt DM, Young LJ, Crews D (1994) Progesterone and sexual behavior in males. *Psychoneuroendocrinology* 19:553-562.
- Woolley SC, Sakata JT, Crews D (2004) Evolutionary insights into the regulation of courtship behavior in male amphibians and reptiles. *Physiology & Behavior* 83:347-360.
- Woolley SC, Sakata JT, Gupta A, Crews D (2001) Evolutionary changes in dopaminergic modulation of courtship behavior in *Cnemidophorus* whiptail lizards. *Hormones and Behavior* 40:483-489.
- Zaidan F, Kreider DL, Beaupre SJ (2003) Testosterone cycles and reproductive energetics: Implications for northern range limits of the Cottonmouth (*Agkistrodon piscivorus leucostoma*). *Copeia*:231-240.

Sekundární citace a citace abstraktů

- Cabanac M, Hammel T, Hardy JD (1967) *Tiliqua scincoides* – Temperature-sensitive units in lizard brain. *Science* 158:1050-&.
- Crews D, Wade J, Wilczynski W (1990) Sexually dimorphic areas in the brain of whiptail lizards. *Brain*

Behavior and Evolution 36:262-270.

Grassman M, Crews D (1986) Progesterone induction of pseudocopulatory behavior and stimulus response complementarity in an all-female lizard species. *Hormones and Behavior* 20:327-335.

Rozendaal JC, Crews D (1989) Effects of intracranial implantation of dihydrotestosterone on sexual behavior in male *Cnemidophorus inornatus*, a direct sexual ancestor of a parthenogenetic lizard. *Hormones and Behavior* 23:194-202.

Wade J, Huang JM, Crews D (1993) Hormonal control of sex differences in the brain, behavior and accessory sex structures of whiptail lizards (*Cnemidophorus* species). *Journal of Neuroendocrinology* 5:81-93.

Wright LW (1993) Evolution of the lizards of the genus *Cnemidophorus*, in Wright JW (ed) *Biology of Whiptail Lizards (Genus Cnemidophorus)*, pp 27-82 (Oklahoma Museum of Natural History, Norman 1993)

Young LJ, Greenberg N, Crews D (1991) The effects of progesterone on sexual behavior in male green anole lizards (*Anolis carolinensis*). *Hormones and Behavior* 25:477-488.